

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-245677

(43)Date of publication of application : 11.09.2001

(51)Int.Cl.

C12N 15/09
C12M 1/00
C12O 1/68
G01N 33/53
G01N 33/566
G01N 33/569
//(C12O 1/68
C12R 1:42)
(C12O 1/68
C12R 1:01)

(21)Application number : 2000-398087

(71)Applicant : SRL INC
MARINE BIOTECHNOL INST CO LTD
NIPPON GENE CO LTD

(22)Date of filing : 27.12.2000

(72)Inventor : FUKUSHIMA MASAO
KAKINUMA KENICHI
KAWAGUCHI RYUJI

(30)Priority

Priority number : 11368920 Priority date : 27.12.1999 Priority country : JP

(54) NUCLEIC ACID FOR ASSAYING BACTERIA BELONGING TO THE GENUS SHIGELLA OR SALMONELLA AND METHOD FOR DETECTING THE BACTERIA

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a means for discriminating *Shigella flexneri*, *Shigella boydii*, *Shigella sonnei*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella chester*, *Salmonella enteritidis* and *Salmonella oranienburg* by a gene test to assay.

SOLUTION: This means for discriminately assaying the above nine kinds of bacteria is provided by using a section which consists of a base sequence in the specific domain of gyrase β gene(*gyr β*) consisting of the structural gene of the β -subunit in these bacterial enzyme topoisomerase II and contains the different base sequence due to each bacterial species as a primer or a probe.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-245677
(P2001-245677A)

(43) 公開日 平成13年9月11日 (2001.9.11)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 M 1/00	A
		C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 M 1/00		G 0 1 N 33/53	M
C 1 2 Q 1/68		33/566	
G 0 1 N 33/53		33/569	F
審査請求 未請求 請求項の数29 O L (全 40 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号 特願2000-398087 (P2000-398087)

(22) 出願日 平成12年12月27日 (2000. 12. 27)

(31) 優先権主張番号 特願平11-368920

(32) 優先日 平成11年12月27日 (1999. 12. 27)

(33) 優先権主張国 日本 (J P)

(71) 出願人 390037006

株式会社エスアールエル

東京都立川市曙町二丁目41番19号

(71) 出願人 591001949

株式会社海洋バイオテクノロジー研究所

東京都文京区本郷1丁目28番10号

(71) 出願人 000135162

株式会社ニッポンジーン

東京都千代田区神田錦町一丁目5番地 金剛錦町ビル

(74) 代理人 100088546

弁理士 谷川 英次郎

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シゲラ属又はサルモネラ属細菌の測定用核酸及び検出方法

(57) 【要約】

【課題】 遺伝子検査により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグを識別して測定する手段を提供すること。

【解決手段】 これらの細菌の酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子 (*gyrB*) の特定の領域の塩基配列であって、各菌種によって塩基配列が異なっている部分をプライマー又はプローブとして用いることにより、上記9種類の菌を識別的に測定する手段を提供した。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 配列表の配列番号 1 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 2 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・フレクスネリ測定用核酸。

【請求項 2】 配列表の配列番号 2 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 又は 3 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ボイディ測定用核酸。

【請求項 3】 配列表の配列番号 3 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 若しくは 2 又は 4 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ゾネイ測定用核酸。

【請求項 4】 配列表の配列番号 4 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 3 又は 5 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィ測定用核酸。

【請求項 5】 配列表の配列番号 5 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 4 又は 6 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・パラチフィ A 測定用核酸。

【請求項 6】 配列表の配列番号 6 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 5 又は 7 ないし 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィウム測定用核酸。

【請求項 7】 配列表の配列番号 7 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 6 又は 8 若しくは 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チェスター測定用核酸。

【請求項 8】 配列表の配列番号 8 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 7 又は 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの

対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・エンテリティディス測定用核酸。

【請求項 9】 配列表の配列番号 9 に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号 1 ないし 8 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・オラニエンバーグ測定用核酸。

【請求項 10】 配列表の配列番号 20 ないし 29 に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に前記断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る請求項 1 ないし 9 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 11】 塩基数が 8～50 である請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 12】 核酸増幅用プライマーである請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 13】 フォワード側プライマーであり、前記異なる塩基が、核酸の 3' 末端に位置する請求項 12 記載の核酸。

【請求項 14】 核酸プローブとして用いられる請求項 1 ないし 11 のいずれか 1 項に記載の核酸。

【請求項 15】 請求項 1 ないし 9 の複数の請求項に記載された複数の核酸から成る複数の核酸プローブを支持体上に不動化して成る、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグから成る群より選ばれる複数の細菌検出用核酸チップ。

【請求項 16】 配列番号 30 ないし 39 に示される塩基配列を有する核酸のうち複数の核酸を前記核酸プローブとして支持体上に不動化した請求項 15 記載の核酸チップ。

【請求項 17】 請求項 1 ないし 9 の全ての請求項にそれぞれ記載された少なくとも 9 種類の核酸を支持体上に不動化して成るシゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィ A、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグ検出用核酸チップ。

【請求項 18】 配列番号 30 ないし 39 に示される塩基配列を有する核酸を前記核酸プローブとして支持体上に不動化した請求項 17 記載の核酸チップ。

【請求項 19】 核酸プローブの塩基数が 8 ないし 25 である請求項 15 ないし 18 のいずれか 1 項に記載の核酸チップ。

【請求項 20】 配列表の配列番号 1 に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号 2 ない

し9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・フレクスネリの検出方法。

【請求項21】 配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ポイディの検出方法。

【請求項22】 配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ソネイの検出方法。

【請求項23】 配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チフィの検出方法。

【請求項24】 配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィAの検出方法。

【請求項25】 配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィムリウムの検出方法。

【請求項26】 配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チェスターの検出方法。

【請求項27】 配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・エンテリティディスの検出方法。

【請求項28】 配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・オラニエンバーグの検出方法。

【請求項29】 請求項20ないし28のいずれか1項に記載された核酸の増幅に用いられ、増幅すべき核酸領域の塩基配列のいずれかの末端領域と同一又は相補的な塩基配列を有する核酸から成る核酸増幅用プライマー。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、シゲラ属又はサルモネラ属細菌の測定用核酸及び検出方法に関する。

【0002】

【従来の技術】シゲラ・フレクスネリ (*Shigella flexneri*)、シゲラ・ポイディ (*Shigella boydii*) 及びシゲラ・ソネイ (*Shigella sonnei*) 等のシゲラ属細菌並びにサルモネラ・チフィ (*Salmonella typhi*)、サルモネラ・パラチフィA (*Salmonella paratyphiA*)、サルモネラ・チフィムリウム (*Salmonella typhimurium*)、サルモネラ・チェスター (*Salmonella chester*)、サルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella enteritidis*) 及びサルモネラ・オラニエンバーグ (*Salmonella oranienburg*) 等のサルモネラ属細菌は、感染症又は食中毒の病原菌として、医療上重要であり、その診断、治療又は予防のためには、これらの菌を同定する必要がある。

【0003】従来、菌の同定は、菌を培養し、糖の資化性検査等の生化学的検査を行うことにより主として行われている。しかしながら、この方法では、菌の培養に時間がかかるため、感染症や食中毒の診断、治療や予防を迅速に行うことができないという欠点を有する。

【0004】一方、菌の遺伝子配列に基づき、菌を同定する遺伝子検査も行われている。遺伝子検査は、菌の培養を必要としないため、迅速に検査を行うことができるという利点を有する。遺伝子検査により、近縁の菌同士を識別するために、16SリボソームRNA (rRNA) の塩基配列の異同が利用されている。

【0005】また、特開平11-169175号公報には、酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子 (*gyrB*) の塩基配列の異同によりバクテロイデス細菌、ミコバクテリウム属細菌、キチノファガ属細菌、フラボバクテリウム属細菌、サイトファガ属細菌、シネココッカス属細菌、カウロバクター属細菌及びシュードモナス属細菌等を検出する方法が記載されている。しかしながら、特開平11-169175号公報には、シゲラ属細菌や、サルモネラ属細菌の検出については何ら記載されていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】上記した3種類のシゲ

ラ属細菌及び6種類のサルモネラ属細菌は、いずれも腸内細菌科に属し、その遺伝子配列は極めて類似しており、16S rRNAの塩基配列も極めて類似しているため、16S rRNAの塩基配列に基づく従来の方法により上記9種の細菌を識別して同定することはできない。

【0007】従って、本発明の目的は、遺伝子検査により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグを識別して測定する手段を提供することである。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】本願発明者らは、鋭意研究の結果、これらの細菌の酵素トポイソメラーゼIIのβサブユニットの構造遺伝子であるジャイレースβ遺伝子(gyrB)のある部分の塩基配列が、各菌種を識別できる程度に異なっていることを見出し、かつ、どの部位の塩基が異なっているのかを見出し、それによって、上記9種類の菌を識別的に測定することを想到して本発明を完成した。

【0009】すなわち、本発明は、配列表の配列番号1に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号2ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・フレクスネリ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ボイディ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、シゲラ・ゾネイ測定用核酸を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィ測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれか

の対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・パラチフィA測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チフィムリウム測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・チェスター測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・エンテリティディス測定用核酸を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸若しくは該核酸の相補鎖又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成る、サルモネラ・オラニエンバーグ測定用核酸を提供する。

【0010】さらに、本発明は、配列表の配列番号1に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号2ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・フレクスネリの検出方法を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号2に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1又は3ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ボイディの検出方法を提供する。また、本発明は、配列表の配列番号3に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1若しくは2又は4ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、シゲラ・ゾネイの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号4に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし3又は5ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域

中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チフィの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号5に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし4又は6ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィAの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号6に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし5又は7ないし9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・パラチフィウムMの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号7に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし6又は8若しくは9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・チェスターの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号8に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし7又は9に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・エンテリティディスの検出方法を提供する。さらに、本発明は、配列表の配列番号9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、配列番号1ないし8に示される塩基配列を有する核酸の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定することを含む、サルモネラ・オラニエンバーグの検出方法を提供する。さらに、本発明は、これらの本発明の方法における核酸の増幅に用いられ、増幅すべき核酸領域の塩基配列のいずれかの末端領域と同一又は相補的な塩基配列を有する核酸から成る核酸増幅用プライマーを提供する。

【0011】

【発明の実施の形態】シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ソネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィウムM、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグの*gyrB*遺伝子の特定の領域の塩基配列を配列表の配列番号1～9にそれぞれ示す。また、図1～3には、配列番号1～9に示す塩基配列を整列させて示す（なお、配列番号1～9に示された塩基配列と図1～3に示された塩基配列は同一であるが、万一相違があった場合には図1～3を優先させ

る）。図1～3において、シゲラ・フレクスネリの塩基配列のみが全て示され、他の細菌の塩基配列については、シゲラ・フレクスネリの塩基配列と同じ塩基はドットで示し、異なる塩基の部分のみがアルファベットで示されている。従って、図1～3を見れば、どの菌のどの部位の塩基がどのように相違しているのかが一目瞭然である。本発明は、配列番号1～9及び図1～3に示す塩基配列の異同により、上記の9種類の菌を識別して測定することをその原理としている。

【0012】本発明の菌検出用核酸は、核酸増幅用プライマー及びプローブを包含する。まず、核酸増幅用プライマーについて説明する。各菌を測定するためのプライマーは、配列番号1～9に示される、その菌の*gyrB*遺伝子の塩基配列又はその相補鎖の一部と同一の塩基配列を有する核酸断片、好ましくはDNA断片から成る。例えば、シゲラ・フレクスネリ検出用のプライマーであれば、配列番号1に示される塩基配列又はその相補鎖の一部と同一の塩基配列を有する。さらに、プライマーは、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応領域中の塩基とは異なる塩基を少なくとも1つ有する。換言すると、9種類の菌の対応領域の塩基配列が全て同一である断片は、ここでいうプライマーとしては用いられない。なお、本明細書において、「対応領域」とは図1ないし図3、又は後述の図4ないし図11に示すように*gyrB*遺伝子の塩基配列を整列させた際に、ある配列のある領域と縦方向の同一の位置に位置する他の配列の領域を意味する。各菌の測定用プライマーは、その菌については塩基配列が完全に相補的であるので、効率良くハイブリダイズし、対応領域中に異なる塩基（ミスマッチ塩基）を有する菌については、プライマーが効率良くハイブリダイズできないので、増幅がほとんどあるいは全く起きないようにすることができる。従って、このようなプライマーを用いることにより、検体がその菌又はその菌を包含する群に含まれる菌を含んでいるか否かを知ることができる。なお、プライマーは、2以上のミスマッチ部位を含んでもよい。ミスマッチ塩基を有する他の菌の遺伝子が増幅されないことを確保するために、プライマーはフォワード側プライマーで、その3'末端がミスマッチ部位となるようにプライマーを設定することが好ましい。このようにすると、ミスマッチ塩基を有する他の菌は、たとえプライマーとハイブリダイズし得ても、プライマーの3'末端が非相補的で対合できないので、それ以上鎖が伸長せず、従って増幅は起きない。

【0013】プライマーとして設定する領域は、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応領域とミスマッチな塩基を有するように設定する。これは、図1～3を参照して容易に行うことができる。例えば、シゲラ・フレクスネリをこれ以外の8種類の菌と識別して測定するプライマーを設定する場合には、例えば、第87番目（以下、「87nt」のように記載する）のTが3'末端と

なるフォワード側プライマーを用いる。図1から明らかなように、シゲラ・フレクスネリの87ntはTであるが、他の8種類の菌では、対応する塩基は全てCである。従って、3'末端が87ntのTとなるフォワード側プライマーを用いて増幅を行うと、検体中にシゲラ・フレクスネリが含まれる場合にのみ増幅が起き、他の菌が含まれる場合には増幅が起きない。よって、このプライマーを用いることにより、検体中に含まれる菌がシゲラ・フレクスネリかそれ以外かを識別することができる。なお、この場合、3'末端が、他の8種類の菌の対応塩基であるCであるプライマーを用いて同様に増幅操作を行い、増幅が起きるか否かを確認することにより、より確実に上記識別を行うことができる。

【0014】このように、測定する菌のみが他の8種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含むプライマーとしては、シゲラ・フレクスネリ測定用の場合、上記した87ntの他に、図1から明らかなように、354ntのA、399ntのA、441ntのT、567ntのT、759ntのG、786ntのT及び888ntのTを含むプライマーを挙げることができる。

【0015】本発明のプライマーは、上記のように測定する菌のみが他の8種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含むプライマーに限定されるものではなく、他の8種類の菌の少なくともいずれか1つの対応塩基が異なる塩基を含むプライマーをも包含する。例えば、シゲラ・フレクスネリ測定用の場合、39ntのTを含む、好ましくはこのTを3'末端とするフォワード側プライマーを挙げることができる。この塩基は、シゲラ属の他の2種は対応塩基が共にフレクスネリと同様Tであるが、サルモネラ属の5種は、対応塩基がGになっている。従って、このようなプライマーを用いると、検体中の菌がシゲラ属の3種のいずれかの場合には増幅が起き、サルモネラ属の5種のいずれかの場合には増幅が起きない。従って、このようなプライマーを用いることにより、検体中に含まれる菌がシゲラ属の3種か、サルモネラ属の5種かの識別を行うことができる。同様にして他の適切なプライマーを用いて検定を行うことにより、各プライマーを用いた場合に増幅が起きるか否かのパターンに基づき、容易に菌を同定（単一種に特定）することができる。このように、本明細書において、例えば「シゲラ・フレクスネリ測定用核酸」には、シゲラ・フレクスネリを包含する一群の種を測定するために用いられる核酸も包含されるものと定義する。

【0016】本発明の上記プライマーを用いた菌の測定においては、増幅に用いる一対のプライマーの少なくともいずれか一方のみが上記したミスマッチ部位を有するプライマーであればよく、他方のプライマーは、9種の菌の全てにおいて同一な領域に設定することができる。上記のように、ミスマッチ部位を3'末端とするフォワード側プライマーが本発明のプライマーとして好ましい

ので、フォワード側プライマーとしてはこのようなプライマーを用い、リバース側プライマーは、9種の共通領域に設定することが好ましい。

【0017】なお、PCR等の核酸増幅法自体はこの分野において周知であり、そのためのキット及び装置も市販されているので、プライマーを設定すれば、検体中の菌の遺伝子を鋳型として核酸増幅を容易に行うことができる。また、クエンチャー蛍光色素とレポーター蛍光色素を用いたいわゆるリアルタイム検出PCRを行うことにより、検体中の菌体量を定量することも可能である。従って、本明細書において「測定」とは検出と定量の両者を包含する。なお、リアルタイム検出PCR用のキットも市販されているので、容易に行うことができる。

【0018】核酸増幅は、各測定について1回行うだけでもよいが、1回目で大きな領域を増幅し、2回目でその増幅領域中の領域を増幅する、いわゆるnested核酸増幅を行うことによりさらに確実に測定を行うことができる。この場合、配列番号1～9及び図1～3に示される配列の外側に第1回目の増幅用のプライマーを設定することもできる。配列番号1～9及び図1～3に示される配列の上流側（5'側）に設定されるプライマーの配列の一例を配列番号10に、下流側（3'側）に設定されるプライマー配列の一例を配列番号11に示す。これらの領域にプライマーを設定して先ず配列番号1～9及び図1～3に示される配列の全領域を含む断片を増幅し、次いで、第2回目に上記した本発明のプライマーを用いた増幅を行うこともできる。

【0019】なお、プライマーのサイズは特に限定されないが、15～50塩基程度が好ましく15～30塩基程度がさらに好ましい。また、プライマーは化学合成により容易に調製することができる。

【0020】本発明は、上記したプライマーとして用いられる核酸、好ましくはDNA、に標識を付して成る核酸プローブをも提供する。該プローブは、ミスマッチ部位を含んでいるので、測定すべき種と同一の塩基配列を有する核酸とはハイブリダイズするが、ミスマッチ塩基を有する核酸とはハイブリダイズしない。従って、プライマーの場合と同様、このようなプローブを用いることにより、測定すべき種又は該種を包含する一群の種とそれ以外の種とを識別することができる。ミスマッチ部位についての説明は上記したプライマーの場合と同様である。もっとも、プライマーとは異なり、3'末端がミスマッチ部位であることは特に好ましいということはない。むしろ、核酸プローブの中央近傍、好ましくは核酸断片の一方の端部から塩基数で3/10～7/10の範囲に少なくとも1つのミスマッチ部位を有することが好ましい。また、標識を付さないプローブを膜等の支持体に不動化し、検体遺伝子の増幅物が標識されるようにして検体遺伝子増幅物がプローブを介して膜に結合されるか否かを調べることもできる。このように、標識を付さない核酸

も、検体遺伝子とハイブリダイズするか否かを調べるものは本明細書において「プローブ」と呼ぶ。すなわち、この場合には、上記したプライマーをそのまま核酸プローブとして用いることになる。核酸断片の支持体上での不動態は、市販の装置を用いて周知の方法により行うことができる。

【0021】核酸プローブのサイズは、特に限定されないが、あまりに長いと、各菌間の相同性が高いので、検体がミスマッチ塩基を含んでいてもハイブリダイズしてしまうようになる。従って、プローブのサイズは、8～25塩基程度が好ましく、8～20塩基がさらに好ましい。標識としては、従来の核酸プローブに用いられる周知の標識を用いることができ、例えば放射標識、蛍光標識、酵素標識、ビオチン標識等を挙げることができる。また、プローブは従来のプローブと同様にして用いることができる。

【0022】上記した本発明の各シゲラ属又はサルモネラ属細菌測定用核酸は、上記した9種の細菌に加え、さらにサルモネラ・パラチフィB (*Salmonella paratyphi* B)、大腸菌0157株 (*Escherichia coli* 0157)、エルシニア・エンテロコリチカ (*Yersinia enterocolitica*)、エルシニア・ルケリ (*Yersinia ruckeri*)、エンテロバクター・クロアカエ (*Enterobacter cloacae*)、エンテロバクター・アエロゲネス (*Enterobacter aerogenes*)、ビブリオ・アルギノリチカス (*Vibrio alginolyticus*)、ビブリオ・カンベリ (*Vibrio campbellii*)、ビブリオ・ジアソトロフィカス (*Vibrio diazotrophicus*) 及びビブリオ・ガゾゲネス (*Vibrio gazogenes*) から成る10種の群より選ばれる細菌の少なくとも1種以上、好ましくは5種以上、さらに好ましくは7種以上とも識別して上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌を測定することができるものであることが好ましい。これらの10種の細菌は、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌と同様に、食中毒の原因菌として重要なものであるので、食中毒の原因菌を特定する目的のためには、これら10種の細菌と識別して上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌を同定できることが有利である。これらの10種の細菌のgyrB遺伝子の塩基配列をそれぞれ配列番号20ないし29に示す。また、これらの配列を上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌のgyrB配列と整列させたものを図4ないし図11に示す。なお、図4ないし図11においては、図1ないし図3と同様、シゲラ・フレクスネリの塩基配列のみが全て示され、他の細菌の塩基配列については、シゲラ・フレクスネリの塩基配列と同じ塩基はドットで示し、異なる塩基の部分のみがアルファベットで示されている。また、対応する塩基が存在しない部位はハイフンで示されており、シゲラ・フレクスネリのgyrB遺伝子の配列が存在しない領域では、この領域に塩基配列を有する菌の配列が記載されている。図4ないし図11から、合計19種のgyrB遺伝子の塩基配列

の対応関係及びミスマッチ部位が一目瞭然である。すなわち、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌測定用核酸は、それぞれが、配列番号20ないし29に示される塩基配列を有する核酸若しくはその相補鎖の少なくともいずれかの対応領域中に前記断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片から成るものであることが好ましい。なお、上記と同様、上記のように測定する菌のみがこれら10種類の菌の全てと対応塩基が異なる塩基を含む核酸に限定されるものではなく、これら10種類の菌の少なくともいずれか1種、好ましくは少なくともいずれか5種、さらに好ましくは少なくともいずれか7種の対応塩基が異なる塩基を含む核酸であればよい。

【0023】本発明は、また、上記した本発明の9種の菌測定用の核酸プローブのうち複数の核酸プローブを支持体上に不動態化して成る、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ポイディ、シゲラ・ソネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバーグから成る群より選ばれる複数の細菌検出用核酸チップをも提供する。このような核酸チップには、これら9種類の菌測定用の核酸プローブのうち、少なくとも3種類以上、好ましくは6種類以上、最も好ましくはこれら9種類全部の菌を検出するための核酸プローブが不動態化されていることが好ましい。不動態化される核酸プローブは、さらに、配列番号20ないし29にそのgyrB遺伝子配列が示される、上記した10種類の菌の少なくともいずれか1種、好ましくは少なくともいずれか5種、さらに好ましくは少なくともいずれか7種の対応塩基が異なる塩基を含む核酸であることが好ましい。そうすることによって、検体中の菌が上記10種の菌ではないということも併せて確定できるからである。なお、この場合に、上記した9種のシゲラ属又はサルモネラ属菌の識別の場合と同様、これら10種の菌のうちの複数のものともハイブリダイズする核酸プローブを用いた場合であっても、核酸プローブの組合せを用いることにより、他の複数の核酸プローブとハイブリダイズするか否かのパターンに基づき、検体中の菌が上記10種の菌ではないということを確定することが可能である。このような核酸プローブの組合せの一例が下記実施例4に記載されている。

【0024】複数の菌種測定用の核酸プローブを不動態化して上記のような核酸チップにする場合、検体中の標的核酸（本明細書において、本発明の各核酸プローブとハイブリダイズする、検出すべき各核酸を「標的核酸」という）とのハイブリダイゼーションの至適条件が、全ての不動態化核酸プローブについて実質的に同じになるように設定すれば、核酸チップ全体を増幅産物液と同時に接触させ、同じ条件でハイブリダイズさせることで良好に検査を行うことができるので好ましい。このため、核酸チップに不動態化する各核酸プローブと標的核酸とのハイ

ブリダイゼーションにより形成される二本鎖核酸の融解温度 T_m は、最高のもとの最低のものとの差が 4°C 以内、好ましくは 2°C 以内であることが好ましい。また、検査の正確さを高めるために、各核酸プローブの中央近傍、好ましくは核酸断片の一方の端部から塩基数で $3/10\sim 7/10$ 、さらに好ましくは $4/10\sim 6/10$ の範囲に少なくとも1つのミスマッチ部位を有することが好ましい。

【0025】本発明の核酸チップは、従来のDNAチップと同様に用いることができる。すなわち、検体中の標的核酸（すなわち、*gyrB*遺伝子又はその一部）を、該標的核酸を増幅できる一対のプライマーを用いて、PCRのような周知の核酸増幅法により増幅する。この時に用いるプライマーは、種特異的なプライマーではなく、検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できるものであることが好ましい。なお、ここで、識別しようとする菌とは、検出された菌が、特定の他の種の菌ではないということを確認しようとする場合における特定の他の種の菌のことを意味し、検出すべき菌以外の上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属菌及び上記10種のエルシニア属菌、エンテロバクター属菌、ビブリオ属菌、大腸菌及びサルモネラ・パラチフィBから選択される。検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅することにより、後段の核酸チップ上での陽性パターンにより、菌の同定が可能となる。なお、検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できるプライマーの組合せは、これら全ての菌の対応領域が全て同一配列となっている2つの領域（ただし一方は相補鎖）にハイブリダイズするプライマーを設定すればよく、これは図4ないし図11に示される塩基配列に基づき容易に行うことができる。あるいは、全ての菌の対応領域が全て同一配列となっていない領域にハイブリダイズするプライマーであっても、ハイブリダイズすべき各領域に相補的な複数のプライマーを含む混合プライマーを用いることによっても検出及び／又は識別しようとする全ての菌由来の各標的核酸を増幅できる。なお、増幅される領域内に核酸チップ上の各核酸プローブがハイブリダイズする領域が存在することが必要であることは言うまでもない。標的核酸の増幅の際、増幅核酸を構成する原料として用いられるヌクレオチドとして、標識ヌクレオチドを用いる。もっとも、標識ヌクレオチドは4種類のヌクレオチドのうちの1種類だけでよく、他の3種類のヌクレオチドは標識されていない通常のヌクレオチドを用いることができる。標識ヌクレオチドを用いることにより、増幅される標的核酸は、標識されたものとして得られる。この標識増幅産物を核酸チップ上の各核酸プローブとハイブリダイズさせ、洗浄後、支持体上に結合された標識を測定することにより、検体中に各核酸プローブについての各標的核酸が含まれていたか否かを知ることができる。そして、複数の核酸プローブのどれがハイブリダイズした

のか、その陽性スポットのパターンに基づいて検体中に含まれる菌を同定することができる。なお、上記した操作、すなわち、標的核酸の増幅、核酸プローブとのハイブリダイゼーション、支持体上に結合された標識の検出等は、全て周知の常法により行うことができる。

【0026】また、本発明により、上記9種の近縁細菌の*gyrB*遺伝子の塩基配列が決定されたので、配列番号1～9に示される塩基配列を有する核酸又はその断片であって、他の8種の少なくともいずれかの対応領域中に該断片中の塩基とは異なる塩基を有する断片を増幅し、該断片の塩基配列を決定し、それを配列番号1～9に示される塩基配列と比較することにより、菌を同定することができる（以下、この方法を「ダイレクトシーケンシング法」ということがある）。増幅すべき領域としては、その領域の塩基配列を調べることにより種の同定までできることとなる領域が好ましい。このような領域は、配列番号1～9に示す配列の全領域であってもよいし、それよりも狭い領域であってもよい。

【0027】ダイレクトシーケンシング法の場合には、塩基配列をダイレクトに決定するのであるから、上記のようなミスマッチ部位を有するプライマーを用いる必要はなく、増幅領域の両端にそれぞれ相補的な通常のプライマーを用いることができる。

【0028】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づきより具体的に説明する。もっとも、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【0029】**実施例1** *gyrB*遺伝子の塩基配列の決定

(1) 菌体前処理

シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィムリウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス又はサルモネラ・オラニエンバーグをそれぞれ、常法により液体培養3mlで準培養した。その後、12000 rpm、 4°C 、10分遠心して菌体を集めた。これを精製水50 μl に溶解し、 100°C 、10分加熱した。これを15000 rpm、 4°C 、10分遠心して上清を新しいチューブに移し、これをDNA液とした。

【0030】(2) PCR

このDNAを鋳型にしてPCRを行った。用いたフォワード側プライマーUP1及びリバース側プライマーUP2の塩基配列をそれぞれ配列番号10及び11に示す。反応組成は、10xPCR バッファ（100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl, 15mM MgCl_2 , 0.001%(w/v)ゼラチン）10 μl 、各2 mMの各dNTP 10 μl 、50 μM プライマーUP1 2 μl 、50 μM プライマーUP2 2 μl 、AmpliTa q Gold(PERKIN ELMER社製)0.5 μl 、DNA 10 μl で反応させた。条件は、 96°C 1分、 60°C 1分、 72°C 2分、60サイクルで反応させた。3%アガロースゲル電

気泳動で目的産物の確認をした。増幅が確認できたものについてはG-50セファデックスカラム（ファルマシア社製）を使い精製した。精製物は、3000 rpm、1分遠心して回収した。

【0031】(3) シークエンス

精製増幅産物を使用して以下の反応条件でシークエンスを行った。オートシークエンサーは、ABI PRISM310 Genetic Analyzer (ABI社製)を使用した。試薬は、BigDye Terminator Cycle Sequencing, FS (ABI社製)を使用した。反応条件は、ABI社のプロトコールに従った。

【0032】その結果、上記した9種の菌について、それぞれ配列番号1～9に示す塩基配列が決定された。

【0033】**実施例2** プライマーを用いた菌の同定 シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイから実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用い、本発明のプライマーを用いてこれら3種の識別を行った。

【0034】フォワード側プライマーとして、次の6種類のものを用いた。

F-Mlt: agcgtgacggcaagaagatcat

F-Mlc: agcgtgacggcaagaagaccac

fl-Ma: agaacaaaacgccgatccaccca

fl-Mg: agaacaaaacgccgatccaccca

bo-Mt: acaagaacaaaacgccgatccac

bo-Mc: acaagaacaaaacgccgatccac

また、リバース側プライマーとして次のR-125プライマーを用いた。

R-125: ctggaaaccatcgttcact

【0035】各フォワード側プライマー配列中、下線を引いた部分がミスマッチ部位である。いずれも少なくとも

も3'末端がミスマッチ部位となっている。F-Mlt及びF-Mlcは、308nt～330ntの領域であり、F-Mltは、327nt及び330ntをサルモネラ属の5種と同じくTにしたものであり、F-Mlcは、これらをシゲラ属の3種と同じくCとしたものである。なお、F-Mlcの配列は、シゲラ・フレクスネリ及びシゲラ・ボイディの配列と完全に同一であり、シゲラ・ゾネイとは312ntが異なっているが、後述の結果に示されるように、ミスマッチ部位が3'末端ではないので、シゲラ・ゾネイの場合にも増幅が起きている。fl-Ma及びfl-Mgは、377nt～399ntの領域であり、fl-Maはシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、fl-Mgは、シゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一である。bo-Mt及びbo-Mcは、374nt～396ntの領域であり、bo-Mtはシゲラ・フレクスネリ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一であり、bo-Mcはシゲラ・ボイディの配列と完全に同一である。

【0036】上記した6種類のフォワード側プライマーのそれぞれと、リバース側プライマーR-125の組合せで6通りのPCRを行った。試薬及び反応条件は、実施例1と同様に行った。

【0037】結果を下記表1に示す。表1中、「○」は増幅が起きたこと、「—」は増幅が起きなかったことを示す。表1に示されるように、それぞれの種にとって、増幅が起きるフォワード側プライマーの組合せが異なっているので、どのフォワード側プライマーで増幅が起きたかを調べるによりこれらの3種の菌を識別することができる。

【0038】

【表1】

	F-Mlt	F-Mlc	fl-Ma	fl-Mg	bo-Mt	bo-Mc
<i>S. flexneri</i>	—	○	○	—	—	○
<i>S. sonnei</i>	—	○	—	○	—	○
<i>S. boydii</i>	—	○	—	○	○	—

【0039】**実施例3** プローブを用いた菌の同定

(1) 検体

シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA及びサルモネラ・エンテリティディスから実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用い、本発明のプローブを用いてこれら6種の識別を行った。

【0040】(2) プローブ

プローブとしては、以下の9種類を用いた。

S1-CA: caccacaaat

S1-CG: caccggaat

S1-TG: catccgaat

S2-C: ccaccgaaa

S2-T: ccactgaaa

S3-TGT: ttggcgttg

S3-TGC: ttggcgtcg

S3-CGG: tcggcgtgg

S3-CAC: tcggcatcg

【0041】これらのプローブのうち、S1-CA、S1-CG及びS1-TGは394nt～402ntの領域であり、S1-CAはシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、S1-CGはシゲラ・ゾネイ、サルモネラ・チフィ及びサルモネラ・エンテリティディスの配列と完全に同一であり、S1-TGはシゲラ・ボイディ及びサルモネラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。S2-C及びS2-Tは、416nt～424ntの領域であり、S2-Cの配列は、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、サルモネラ・チフィ及びサルモネラ・エンテリティディスの配列と完全に同一であり、S2-Tの配列は、シゲラ・ゾネイ及びサルモネラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。S3-TGT、S3-TGC、S3-CGG及び

S3-CACは434nt～442ntの領域であり、S3-TGTの配列はシゲラ・フレクスネリの配列と完全に同一であり、S3-TGCの配列はシゲラ・ボイディ及びシゲラ・ゾネイの配列と完全に同一であり、S3-CGGの配列はシゲラ・チフィの配列と完全に同一であり、S3-CACの配列はシゲラ・パラチフィAの配列と完全に同一である。

【0042】(3) メンブレンの調製

上記各プローブを、100 pM/ μ lに調整した後、メンブレンに50 μ lずつ固相した。UVクロスリンカーで1200x10⁴ μ MJ/cm²で照射してドットプロット用のメンブレンを調製した。

【0043】(4) サンプルの放射標識

フォワード側プライマーとして、F-125: aaagcatttggtg aatat、リバース側プライマーとして、上記R-125を用い、各検体遺伝子を鋳型として、放射標識dCTP存在下でPCRを行うことにより、放射標識されたサンプルを調製した。PCRは、10xPCR buffer (100 mM Tris-HCl, pH8.3, 500 mM KCl, 15 mM MgCl₂, 0.001% (w/v) ゼラチン) 5 μ l、各10 mM d(A, G, T) 0.8 μ l、[α -³²P]dCTP (150 μ Ci) 3.0 μ l、各50 μ M プライマーF-125及びR-125 1 μ l、Ampli Taq Gold (PERKIN ELMER社製) 0.3 μ l、DNA 5 μ lで反応させた。条件は、96℃

1分、60℃1分、72℃2分で25サイクル反応させた。PCR標識後、セファデックスG-50カラムで標識物を精製した。

【0044】(5) ハイブリダイゼーション及び現像
先に作製したメンブレンに精製放射標識物を加え、55℃4時間反応させた。2xSSC-0.1%SDS洗浄溶液を加え、室温で10分間、3回洗浄した。次に0.1xSSC-0.1%SDS洗浄液で3回洗浄後、0.1xSSCで50℃、10分間洗浄した。このメンブレンをオートラジオグラフィーカセット、オートラジオグラフィー用フィルム（フジフィルム）を暗室でセットした。-80℃で一晩オートラジオグラフィーを行った。自動現像装置（コダック社製）で現像した。

【0045】結果を下記表2に示す。表2中、「○」はメンブレンにサンプルが結合したことを示し、「-」は結合しなかったことを示す。表2に示されるように、それぞれの種によって、結合するプローブの組合せが異なっているので、上記の方法によりこれら6種を識別することができる。

【0046】

【表2】

表2

	S1-CA	S1-CG	S1-TG	S2-C	S2-T	S3-TGT	S3-TGC	S3-CGG	S3-CAC
シゲラ・フレクスネリ	○	-	-	○	-	○	-	-	-
シゲラ・ゾネイ	-	○	-	-	○	-	○	-	-
シゲラ・ボイディ	-	-	○	○	-	-	○	-	-
サルモネラ・チフィ	-	○	-	○	-	-	-	○	-
サルモネラ・パラチフィA	-	-	○	-	○	-	-	-	○
サルモネラ・エンテリティディス	-	○	-	○	-	-	-	-	-

【0047】参考例1 gyrB遺伝子の塩基配列の決定
サルモネラ・パラチフィB、大腸菌0157株、エルシニア・エンテロコリチカ、エルシニア・ルケリ、エンテロバクター・クロアカエ、エンテロバクター・アエロゲネス、ビブリオ・アルギノリチカス、ビブリオ・カンペリ、ビブリオ・ジアソトロフィカス及びビブリオ・ガソゲネスの各培養物を用いて実施例1と同じ操作を行い、これら10種の細菌のgyrB領域の塩基配列を決定し

Shi1	caagaacaaaacgcc	(配列番号30)
Shi21	attggcgttgaagt	(配列番号31)
Shi22	cgatccatccgaata	(配列番号32)
Shi23	ttctccactgaaaaaga	(配列番号33)
Sal1	aacaagaataaaaacgcc	(配列番号34)
Sal21	cggcgtcgaagta	(配列番号35)
Sal22	cggcgtggaagta	(配列番号36)
Sal23	tgaatatctcaacaagaat	(配列番号37)
Sal24	atcttctatttctccac	(配列番号38)
Esc1a	acggtatcgcggt	(配列番号39)

【0049】上記各プローブがハイブリダイズする種及びその領域（図4～11参照）を下記表3に示す。

た。決定された塩基配列を配列表の配列番号20～29にそれぞれ示す。また、これら10種の細菌及び上記9種のシゲラ属又はサルモネラ属細菌の合計19種の菌のgyrB遺伝子の決定された塩基配列を整理させたものを図4ないし図11に示す。

【0048】実施例4 DNAチップによる菌の同定

(1) DNAチップの作製

以下の11種類のプローブを化学合成した。

【0050】

【表3】

プローブ	ハイブリダイズする種	領域
Shi1	シゲラ・フレキシネリ シゲラ・ゾネイ シゲラ・ボイディ 大腸菌0157 エンテロバクター・クロアカエ エンテロバクター・アエロゲネス	376nt～390nt
Shi21	シゲラ・フレキシネリ	434nt～448nt
Shi22	シゲラ・ボイディ サルモネラ・パラチフィA	391nt～404nt
Shi23	シゲラ・ゾネイ サルモネラ・パラチフィA	413nt～429nt
Sa11	サルモネラ・チフィ サルモネラ・パラチフィA サルモネラ・パラチフィB サルモネラ・エンテリティディス サルモネラ・チェスター サルモネラ・オラニエンバーグ サルモネラ・チフィムリウム	374nt～390nt
Sa121	サルモネラ・パラチフィB サルモネラ・エンテリティディス	436nt～448nt
Sa122	サルモネラ・チフィ サルモネラ・チェスター サルモネラ・オラニエンバーグ サルモネラ・チフィムリウム	436nt～447nt
Sa123	サルモネラ・チフィ サルモネラ・パラチフィA サルモネラ・パラチフィB サルモネラ・オラニエンバーグ	364nt～382nt
Sa124	サルモネラ・チフィ サルモネラ・チフィムリウム エンテロバクター・アエロゲネス	404nt～420nt
Esc1a	サルモネラ・チフィ サルモネラ・パラチフィB サルモネラ・エンテリティディス サルモネラ・チェスター サルモネラ・オラニエンバーグ サルモネラ・チフィムリウム 大腸菌0157 エンテロバクター・アエロゲネス	430nt～441nt

【0051】上記のプローブを200 μ M/ μ lに調整した後、スポッティング溶液（商品名「Micro Spotting Solution」（Telechem International, Inc製）を等量加え、最終濃度100 μ M/ μ lに調製した。これを、マイクロタイタープレートに分注後、スライドガラスに市販のマイクロアレイ作製機で固相した。一昼夜乾燥させた後、0.2%SDS溶液、蒸留水で洗浄した。次に、95℃の蒸留水で加熱した後、Na₂BH₄溶液で洗浄した。再度、SDS

溶液と蒸留水で洗浄した後、乾燥させDNAチップを作製した。

【0052】(2) 検体の調製

シゲラ・フレキシネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ゾネイ、サルモネラ・エンテリティディス、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・オラニエンバーグ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・パラチフィB、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・チフィムリウム及び大腸菌

0157から実施例1と同様に調製したDNA液を検体として用いた。各検体中の各DNAを下記の一对のプライマーF-137及びR-137を用いてPCRにより増幅した。なお、増幅領域は、シゲラ・フレキシネリの383nt~519ntの領域及び各菌の対応領域である。

F-137 : gaaggyggyatymargmrtt

R-137 : tcytgraarcyrtrcttcca

増幅は、放射標識dCTP存在下で行い、これにより増幅産物は放射標識された。反応組成は、10×PCRバッファ (100mM TrisHCl, pH8.3, 500mM KCl, 15mM MgCl₂, 0.001% (W/V)ゼラチン) 5μl、2mM d(A,G,T,C) 10μl、放射標識dCTP (商品名FluoroLink Cy5-dCTP) (1mM) 1μl、50μM PrimerF-137 1μl、PrimerR-137 1μl、AmpliTa q Gold (PERKIN ELMER社製DNAポリメラーゼ) 0.3μl、DNA 5μlで反応させた。条件は、96°C1分、60°C1分、72°C4分、60サイクルで反応させた。PCR標識後、セファデックスG-50カラム (商品名) で標識物を精製した。

【0053】(3) ハイブリダイゼーション

先に作成したDNAチップに精製Cy-5標識増幅産物を加え、40°C4~18時間反応させた。2×SSC-0.02%SDS洗浄溶液を加え、室温で3分間、1回洗浄した。次に、0.1×SSC洗浄液で、3分間洗浄し、乾燥させた。これを、マイクロアレイ読みとり機で、スキャンさせデータを解析した。

【0054】(4) 結果

結果を図12及び図13に示す。なお、これらの図において、下側にプローブ名が記載されている円は、そのプローブを不動化したスポットを示し、黒く塗りつぶされているスポットが陽性 (すなわちプローブとハイブリダイズした) のスポットであり、白抜きのは陰性 (すなわちプローブとハイブリダイズしなかった) のスポットを示す。これらの図からわかるように、各菌によって陽性となるスポットのパターンが異なっており、このパターンに基づいて菌が同定できることがわかる。なお、表3に示すように、プローブShi21以外のプローブは全て複数の菌由来のgyrB遺伝子断片とハイブリダイズするものであるが、それらを組み合わせることにより、陽性となるスポットのパターンに基づいて菌の同定が可能であることがわかる。

【0055】

【発明の効果】以上の通り、本発明により、シゲラ・フレクスネリ、シゲラ・ボイディ、シゲラ・ソネイ、サルモネラ・チフィ、サルモネラ・パラチフィA、サルモネラ・チフィウム、サルモネラ・チェスター、サルモネラ・エンテリティディス及びサルモネラ・オラニエンバグを遺伝子検査により、識別して迅速に測定することが初めて可能になった。従って、本発明は、これらの菌により引き起こされる感染症や食中毒の診断、治療及び予防に大いに貢献するものと期待される。

【0056】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

```
<:110>: SRL, INC.
<:120>: Nucleotides for Measuring Bacteria Belonging to Genus Shigella or
        Salmonera
<:130>: 00660
<:160>: 39
```

【0057】

```
<:210>: 1
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 1
cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcggtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60
cctgtcgcaa aaactggagc tggttattca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120
cgaacacgggt gtaccgcagg ctccgctggc ggttacggc gagactgaaa aaaccggcac 180
catggtgcgt ttctggccca gcctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240
aatctctggc aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcggtt ccattcgtct 300
gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaagcgtt 360
cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacca aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtattggcg ttgaagtggc gctgcagtggt aacgatggct tccaggaaaa 480
catctactgc ttaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcta ccctgaatgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agocaaagtc agcgccaccg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
aaaagtgcgg gaccgaaat tctcctccca gaccaaagac aaactggttt cttctgaggt 720
```

gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctggcg gaatacctgc tggaaaaccc 780
 aactgatcgc aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840
 gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagctg gcctgccggg 900
 caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tgggtgaagg 960
 ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
 gctgaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
 ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
 ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0058】

<:210>: 2
 <:211>: 1171
 <:212>: DNA
 <:213>: *Shigella boydii*
 <:400>: 2

cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcggtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120
 cgaacacggt gtaccgcagg ctccgctggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180
 catggtgcgt ttctggccca gcctcgaaac ctccaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcggtt ccattcgtct 300
 gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca ctccactat gaaggcggca tcaaggcggt 360
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccatccg aatatcttct acttctccac 420
 cgaaaaagac ggtattggcg tcgaagtggc gttgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480
 catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
 ccgtgcggcg atgacccgta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
 agccaaagtc agcgcactg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
 aaaagtccg gaccggaat ttctctccca gaccaaagac aaactggttt cttctgaggt 720
 gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctggca gaatacctgc tggaaaaccc 780
 aaccgcgcg aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840
 gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgccggg 900
 caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tgggtgaagg 960
 ggactccgcg ggcggctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
 gctgaagggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
 ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
 ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0059】

<:210>: 3
 <:211>: 1171
 <:212>: DNA
 <:213>: *Shigella sonnei*
 <:400>: 3

cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcggtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120
 cgaacacggt gtaccgcagg caccgttggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180
 catggtgcgt ttctggccca gcctcgaaac ctccaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcggtt ccattcgtct 300
 gcgcgacaag cgcgacggca aagaagacca ctccactat gaaggcggca tcaaggcggt 360
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420
 tgaaaaagac ggtattggcg tcgaagtggc gttgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480
 catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
 ccgtgcggcg atgacccgta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600

```

agccaaagtt agcgccaccg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
gaaagtgcgg gaccggaat tctctccca gaccaaagac aaactggttt cttctgaggt 720
gaaatcagcg gttgaacagc agatgaacga actgctggca gaatacctgc tggaaaaccc 780
aaccgacgcg aaaatcgtgg ttggcaaaat tatcgatgct gcccggtgcc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgcgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgccggg 900
caaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctctg cgaagcaagg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0060】

```

<:210>: 4
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella typhi
<:400>: 4

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggtggtct gcacggggtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggagc tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgttt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaacgcc gatccacccg aatatcttct atttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggcgt 540
ccgtgcggcg atgaccgca cgtgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
aaaagtgcgg gaccggaat tctctcaca gaccaaagat aagctggtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaatcgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagccg gtcctgccgg 900
caaactggcg gattgtcagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc ttctctccca 1080
ggaagtggcg acgctgatca ccgcgctggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0061】

```

<:210>: 5
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella paratyphiA
<:400>: 5

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggtggtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagttaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaaac cttcaccac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tctggcgttt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgacggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcatt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaacgcc gatccatccg aatatcttct atttctccac 420
tgaaaaagac ggtatcggca tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480

```



```

catctactgc tttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgacccgta cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gcgacgatgc ccgtgaagggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gatccgaaat tctctcaca gaccaaagat aagctgggtct cttccgagggt 720
gaaatcggcg gtggaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagccg gtcgtccggg 900
caaaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaagtggcg acgttgatta ccgcgtggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0062】

```

<:210>: 6
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella typhimurium
<:400>: 6

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcgggtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg cacccttggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcaccaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctgaacaaga ataaacgcc gatccacccg aatatcttct atttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaaagtag cctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc ttgcaggctt 540
ccgtgcggcg atgacccgta cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gcgacgatgc ccgtgaagggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gatccgaaat tctctcaca gaccaaagat aagctgggtct cttccgagggt 720
gaaatcggcg gtgaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaatcgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtcgtccggg 900
caaaactggcg gactgtcagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tttcctccca 1080
ggaagtggcg acgttgatca ccgcgtggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0063】

```

<:210>: 7
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella chester
<:400>: 7

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcgggtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg cacccttggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcaccaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360

```

```

tgttgaatat ctgaacaaga ataaaacgcc gatccaccgc aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480
tatctactgc ttaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgca cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agctaaagtc agcgccaccg gcgatgatgc ccgtgaaggt ctgattgagg tggtttccgt 660
aaaagtgcg gaccgaaat tctcctcaca gaccaaagat aagctgggtct cttccgagg 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga attgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaatat tatcgaatgc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgccgc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctc gatttagcgg gtctgccggg 900
caaaactggc gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaaagtggc acgctgatta ccgcgctggg ctgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0064】

```

<:210>: 8
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella enteritidis
<:400>: 8

```

```

cgataactcc tataaagtct ctgggtgtct gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240
gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tctggcggtt ccatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
tgttgaatat ctgaacaaga ataaaacgcc gatccaccgc aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480
tatctactgc ttaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc ttgcaggctt 540
ccgtgcggcg atgaccgcta cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccactg gcgacgatgc ccgtgaaggt ctgattgagg tggtttccgt 660
aaaagtaccg gaccgaaat tctcctcaca gaccaaagac aagctgggtct cttccgagg 720
gaaatcggcg gtggaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacttgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
gcgtcgccgc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctg gatttagcgg gtctgccggg 900
caaaactggc gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaaagtggc acgctgatca ccgcgctggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0065】

```

<:210>: 9
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Salmonella oranienburg
<:400>: 9

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggtgtgtc gcacggcgtg ggcgctctcg tagtcaacgc 60
tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
cgagcacggc gtgccgagg caccctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggtac 180
gatggtacgt ttctggccga gccacgaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240

```

```

gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ctatccgcct 300
gcgcgacaag cgcgatggca aagaagatca ttccactac gaaggcggca tcaaggcggt 360
tgttgaatat ctcaacaaga ataaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420
cgaaaaagac ggtatcggcg tggaagtagc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggcgt 540
ccgtgcggcg atgaccgcga cgtgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcggcaccg gcgacgatgc ccgtgaaggt ctgattgcgg tggtttccgt 660
gaagggtccg gaccgaaat tctcctcgca gaccaagat aagctggtct cttccgaggt 720
gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga attgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
cggtcgcgcc cgtgaaatga ccgctcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtctgccggg 900
caaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
ggactccgcg ggccggtctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gctgaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gacaagatgc tctcctctca 1080
ggaagtggcg actctgatca ccgcactggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
ggacaagctg cgttaccaca gcatcattat c 1171

```

【0066】

```

<:210>: 10
<:211>: 41
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 10
gaagtcatca tgaccgttct gcaygcnngn ggnaarttyg a 41

```

【0067】

```

<:210>: 11
<:211>: 44
<:212>: DNA
<:213>: Shigella flexneri
<:400>: 11
agcagggtac ggtagtgcga gccrtonacr tngcrtcng tcat
44

```

【0068】

```

<:210>: 12
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Salmonella bacteria
<:400>: 12
agcgtgacgg caaagaagat cat 2
3

```

【0069】

```

<:210>: 13
<:211>: 23
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri and S
higella boydii
<:400>: 13

```

agcgtgacgg caaagaagac cac 23

【0070】

<:210>: 14
 <:211>: 23
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri
 <:400>: 14
 agaacaaaac gccgatccac cca 2
 3

【0071】

<:210>: 15
 <:211>: 23
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella boydii and Shigella sonnei
 <:400>: 15
 agaacaaaac gccgatccac ccg 23

【0072】

<:210>: 16
 <:211>: 23
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella flexneri and Shigella sonnei
 <:400>: 16
 acaagaacaa aacgccgatc cat 23

【0073】

<:210>: 17
 <:211>: 23
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: Foward primer for amplifying gyrB gene of Shigella boydii
 <:400>: 17
 acaagaacaa aacgccgatc cac 23

【0074】

<:210>: 18
 <:211>: 20
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: Reverse primer for amplifying gyrB gene of Shigella and Salmonella
 <:400>: 18
 ctggaaccca tcgttcact 20

【0075】

<:210>: 19
 <:211>: 20
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>: 18
 <:223>: Forward primer for amplifying gyrB gene of Shigella and Salmonella
a
 <:400>: 19
 aaagcatttg ttgaatat 18

【0076】

<:210>: 20
 <:211>: 1171
 <:212>: DNA
 <:213>: Salmonella paratyphiB
 <:400>: 20
 cgataactcc tataaagtct ccggcgggtct gcacggcgtg ggctgtctcgg tagtcaacgc 60
 tctgtcgcaa aaactggaac tggttatcca gcgagatggc aaaattcacc gtcagatcta 120
 cgagcacggc gtgccgcagg caccocctggc cgtcactggc gataccgata aaaccggcac 180
 gatggtagct ttctggccga gccacgaaac cttcactaac gtcactgaat ttgaatatga 240
 gatcctggcg aaacgcctgc gtgaactgtc attcctgaac tcaggcgtct ccatccgcct 300
 gcgcgacaag cgcgacggca aagaagatca tttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
 tgttgaatat ctcaacaaga ataaaacgcc gatccacccg aatatcttct acttctccac 420
 cgaaaaagac ggtatcggcg tcgaagtagc gctgcagtgg aacgatgggt tccaggaaaa 480
 catctactgc tttaaccaac acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcaggcgtt 540
 ccgtgcggcg atgaccgcga cgctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
 agccaaaagtc agcgcaccgc gcgacgatgc ccgtgaaggc ctgattcggg tggtttcgt 660
 aaaagtaccg gatccgaaat tctctcaca gaccaaaagat aagctggtct cttccgaggt 720
 gaaatcggcg gtagaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
 atctgacgcg aaaattgtcg tcggcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagcggc 840
 gcgtcgcgcc cgtgaaatga ccgctcgtaa aggcgcgctc gatttagccg gtctgccggg 900
 caaactggcg gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc tggtggaagg 960
 ggactccgcg ggcggtctcg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
 gctgaaaggc aaaatcctta acgtcgagaa agcgcgttc gacaagatgc tttcctccca 1080
 ggaagtggcg acgtgatca ccgcgctggg ctgcggtatc ggtcgcgacg agtacaaccc 1140
 ggacaagctg cgctatcaca gcacatcat c 1171

【0077】

<:210>: 21
 <:211>: 1171
 <:212>: DNA
 <:213>: Escherichia coli 0157
 <:400>: 21
 cgataactcc tataaagtgt ccggcgggtct gcacggcgtt ggtgtttcgg tagtaaacgc 60
 cctgtcgcaa aaactggagc tggttattca gcgcgagggt aaaattcacc gtcagatcta 120
 cgaacacggt gtaccgcagg caccgctggc ggttaccggc gagactgaaa aaaccggcac 180
 catggtagct ttctggccca gcctcgaaac cttcaccaat gtgaccgagt tcgaatatga 240
 aattctggcg aaacgtctgc gtgagttgtc gttcctcaac tccggcgttt ccattcgtct 300
 gcgcgacaag cgtgacggca aagaagacca cttccactat gaaggcggca tcaaagcgtt 360
 cgttgaatat ctgaacaaga acaaaacgcc gatccacca aatatcttct acttctccac 420
 cgaaaaagac ggtatcggcg ttgaagtggc gctgcagtgg aacgatggct tccaggaaaa 480

```

catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgtgacggc ggtactcacc tggcaggcgtt 540
ccgtgcgggc atgacccgta ccctgaatgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agccaaagtc agcgccaccg gtgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgcgg tcgtttccgt 660
aaaagtgcg gaccgaaat tctcctccca gaccaaagac aaactggttt cttctgaggt 720
gaaatcgcg gttgaacagc agatgaacga actgttggcg gaatacctgc tggaaaaccc 780
aactgacgcg aaaatcgtagg ttggcaaaat tatcgatgct gcccgtagcc gtgaagcggc 840
gcgtcgcgcg cgtgaaatga cccgccgtaa aggtgcgctc gacttagcgg gcctgcccgg 900
caaaactggca gactgccagg aacgcgatcc ggcgctttcc gaactgtacc ttgtggaagg 960
ggactccgcg ggcggtctg cgaagcaggg gcgtaaccgc aagaaccagg cgattctgcc 1020
gtgaagggt aaaatcctca acgtcgagaa agcgcgcttc gataagatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgcttatca ccgcgcttgg ttgtggtatc ggtcgtgacg agtacaaccc 1140
ggacaaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

```

【0078】

```

<:210>: 22
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Yersinia enterocolitica
<:400>: 22

```

```

cgataactcg tacaaagttt ccggtgggtt gcacggcgta ggtgtatccg ttgttaacgc 60
cctgtctgaa aaactggagc tggatgattc ccgtgaaggc aaagtgcacg agcagactta 120
caagatgggt gtgccgagg caccattgaa agtgggtggc gaaaccgac aaaccgggac 180
aaccgtgcgt ttctggccga gcttccagac gttcaccat aataccgaat tccaatatga 240
aatcctggca aaacgtctgc gtgagctatc gttcctgaac tctgggggtt caatcaagct 300
gaaagacaaa cgtaatgaca aagaagacca cttccattac gaaggcggta tcaaagcgtt 360
tgttagtat ctgaacaaaa acaaaaaccc gatccacccg aaagtgttct atttctccac 420
cgtgaaagat gatatcggtg tggaagtggc attgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
tatttactgt ttcaccaaca acattccaca gcgcgatggg gggactcact tagtcgggtt 540
ccgtacggcg atgactcgta ccctgaatag ctacatggat aaagaagggt acagtaaaaa 600
agcgaatac agtgcaaccg gtgatgatgc ccgtgaagga ttgattgctg tggtttccgt 660
gaaagtgcc gaccctaaat tctcctcaca gaccaaagat aaactggttt cttctgaggt 720
aaaaactcgc gtcgaaacgc tgatgaacga gaagctggtt gagtatctac tggaaaaccc 780
aaccgacgcc aaaatcgtagg ttggcaaaat tattgacgca gcccgtagctc gtgaagctgc 840
gcgtaaaagg cgtgaaatga ccgcgccgta aggtgcgctg gatttggctg gcttaccagg 900
caaaactggc gactgtcagg aacgtgaccc agcattgtcc gaactctact tagtggaagg 960
ggactcagcg ggcggtctg cgaacaagg ccgtaaccgt aaaaatcagg ctattttgc 1020
gctgaaagg aaaattctga acgtcgagaa agcgcgttt gacaaaatgc tttcctcgca 1080
ggaagtggca aactgatca ccgcgttggg ttgtggtatt ggacgggatg aatataaccc 1140
ggacaaattg cgttatcaca atatcattat c 1171

```

【0079】

```

<:210>: 23
<:211>: 1137
<:212>: DNA
<:213>: Yersinia ruckeri
<:400>: 23

```

```

ggcgggttgc atggcggtgg tgtgtcagtt gttaacgctc tgtctgaaaa actggagttg 60
gtgattcgcc gtgaaggtaa agttcacgag cagacttaca aaatgggtgt gccgcaagca 120
ccactaaaaa tgggtgggtga aaccgatcag accgggacta cgggtcggtt ctggccgagc 180
ttcagacct tcaccaataa caccgaattt caatacgaaa ttctggcgaa acgottgcgt 240
gagctgtcgt tcctgaactc cgggggttca atcaaaactga aagacaaacg taacgacaaa 300
gaagaccact tccattacga aggcggtatc aaagcgtttg ttgagtatct gaacaaaaac 360

```

```

aaaaccccg tccatccgaa agtgttctat ttctctacta tgaaagatga catcgggtgtg 420
gaagtggcct tgcagtggaa tgatggtttc caagaaaata ttactgctt taccaacaac 480
attccacagc gcgatggcgg taccatttg gttggtttcc gtacggcgat gacgcgtacg 540
ctgaacagct atatggataa agaaggctac agcaagaaag ccaagatcag tgccactggg 600
gaogatgccc gtgaaggcct gattgccgtg gtatcgggta aagtgcggga tcctaaattc 660
tcctcacaga ctaaagataa gctggtttct tccgaagtga aaaccgcggt tgaacagctg 720
atgaacgaga agttggtcga gtatttgctg gaaaacccaa gcgacgccaa aatcgtggtc 780
ggcaagatta ttgatggcgc tcgcctcgtg gaagctgcac gcaagcccg tgaatgacg 840
cgtcgtaaa gggcattgga tctcggcgtg ctgcctggca agttggcgga ctgtcaggaa 900
cggatccgg cattatctga actttaccta gtggaagggg actcggcggg cggatcggca 960
aaacaaggcc gtaaccgtaa gaatcaggcg attctaccgc tgaaggtaa gattctgaac 1020
gttgagaaag cgcgttttga taagatgctg tcttcgcagg aagtggccac gctgattact 1080
gcgctgggct gcggtattgg ccgggatgaa tataaccggg acaagttgcg ctatcac 1137

```

【0080】

```

<:210>: 24
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Enterobacter cloacae
<:400>: 24

```

```

cgataactcc tataaagtct ccggcggcct gcacggcgta ggtgtttccg tggtaaacgc 60
cctgtcgcag aaactggaac tggttatcca gcgcgaaggc aaaattcacc gccagatcta 120
tcagcacggt gtgcctgaag cgccgctggc cgtgaccggc gataccgaaa aaaccggtac 180
catgggtcgt ttctggccga gcctcgaaac cttaccaaac gtcaccgagt tcgagtacga 240
catcctggca aaacgcctgc gtgaactgtc gttcctgaac tccggcgtct caattcgtct 300
gcgtgacaaa cgcgacaaca aagaagacca cttccactat gaaggtggtg tcaaagcgtt 360
cgttgaatac ctgaacaaga acaaaacgcc aattcacca aatatcttct atttctctac 420
ggaaaaagac ggtatcggcg tggaagtggc tctgcagtgg aacgacggtt tccaggaaaa 480
catctactgc ttcaccaaca acattccaca gcgtgacggt ggtacgcacc ttgcgggctt 540
ccgtgccggc atgaccgcta ccctgaacgc ctacatggac aaagaaggct acagcaaaaa 600
agcgaagtc agcgcaccgc gtgatgacgc ccgtgaaggc ctgattgctg ttgtctccgt 660
gaaagtgcg gatccgaagt tctcctcaca gaccaaagac aagctggtct cctctgaggt 720
gaaatcggcg gttgaacagc agatgaacga actgctgagc gactacctgc aggaaaaccc 780
gaacgcgcgc aaaatcgttg tcgtaaaat tatcgaatga gcgcgtgcc gtgaagcggc 840
gcgtaaagcc cgtgaaatga cccgccgtaa aggcgcgctg gacttagcgg gtcgtccggg 900
caaatggct gactgccagg aacgcgaccc ggcgctgtcc gaactgtacc ttgtggaagg 960
ggactccgcg ggcggttctg cgaagcaggc ccgtaacgtt aagaaccagg ccatcctgcc 1020
gttgaaaggt aaaatcctca acgttgagaa agcgcgtttc gacaaaatgc tctcttctca 1080
ggaagtggcg acgctgatca ccgcgctggg ctgcggcatt ggtcgtgacg aatacaaccc 1140
ggacaagctg cgctatcaca gcatcatcat t 1171

```

【0081】

```

<:210>: 25
<:211>: 1171
<:212>: DNA
<:213>: Enterobacter aerogenes
<:400>: 25

```

```

tgataactcc tataaagtgt ccggcggctc gcacggcgta ggctgtcgg tggttaacgc 60
cctgtcgcag aagctggagc tggttatcca acgcgataac aaagttcaca acaaaattta 120
tgagcacggt gtgccgagg caccgctggc ggtaaccggt gaaaccgaaa gcaccggtac 180
catggtcgt ttctggccaa gcctggaaac ctttaccac gtcactgaat tcgaatacga 240
aatcctggcg aaacgtctgc gcgagctgic gttcctcaac tccggggtct ctatccgcct 300

```


gcgcgataag cgcgacggca aagaagacca ttccactac gaaggcggca tcaaggcgtt 360
 tgttgagtat ctcaacaaga acaaacgcc gatccaccg aatatcttct atttctccac 420
 cgaaaaagac ggtatcgcg ttgaagtggc gctgcagtgg aacgatggtt tccaggaaaa 480
 catctactgc tttaaccaaca acattccgca gcgcgacggc ggtactcacc tggcgggctt 540
 ccgcgcggcg atgaccgta ccctgaacgc ctacatggat aaagaaggct acagcaaaaa 600
 ggcgaaagtc agcgctaccg gcgacgatgc gcgtgaaggc ctgattgccg tggtttccgt 660
 aaaggtagcg gatccgaagt tctctctca gactaaagac aagctggtct cctccgaggt 720
 gaaatcgcg gttgaacagc agatgaacga actgctgagc gaatacctgc tggaaaaccc 780
 gtccgatgcg aaaatcgtag tccgcaaaat tatcgacgcc gcgcgtgcgc gtgaagccgc 840
 gcgtcgcgcc cgtgaaatga cccgtcgtaa aggcgcgctt gacctggcag gcctgccggg 900
 caaactggcg gattgccagg aacgcgaccc ggcgctgtct gaactgtacc tctggaagg 960
 ggactccgcg ggcggctctg cgaaacaggg ccgtaaccgt aagaaccagg ctatctgcc 1020
 gctgaagggt aaaatcctta acgttgagaa agcccgcttc gataaaatgc tctcttctca 1080
 ggaagtagcc acgcttatca ccgcgctggg ctgcggcacc gccgcgatg agtacaaccc 1140
 ggataaactg cgttatcaca gcatcatcat c 1171

【0082】

<:210>: 26
 <:211>: 660
 <:212>: DNA
 <:213>: *Vibrio alginolyticus*
 <:400>: 26

gataactcat acaaagtatc gggtaggtctt caccgggtag gtgtttcagt agtaaagca 60
 ctatcagaga aagttgagct aacgattcat cgtggtggcc atatccatac gcaaacctac 120
 cgccatgggt agcctcaagc gccactagcc gttgtgggtg ataccgataa aaccggatca 180
 caaatctgtt tctggccaag tgccgagacg ttctctaaca ctgagttcca ctatgacatt 240
 ctggcgaaac gcctgcgtga actgtcattc ctgaactctg gtgtgtcgat caaattggtt 300
 gatgaacgtg aagcggacaa acatgatcac ttcattgatg aaggtaggtat tcaagcgttc 360
 gttgatcacc taaacaccaa caaacgcca atcatcgaaa aaatcttcca ctttaactct 420
 gagcgtgaag acggcatttc agttgaagtg gcgatgcaat ggaacgatgg ttccaagag 480
 aacatcttct gctttaccaa caatatccca cagcgtgatg gtggtactca ccttgctggt 540
 ttccgtgctg cgctaacacg tacattgaac agctttatgg ataaagaagg ttctcgaag 600
 aaagcgaana cagcgacttc aggcgacgat gcgcgtgaag gtctaactgc ggttgttctg 660

【0083】

<:210>: 27
 <:211>: 1401
 <:212>: DNA
 <:213>: *Vibrio campbellii*
 <:400>: 27

acggacgacg gcaactgtct tcaccacatg gtcttcgagg tggtaggataa ctcaattgat 60
 gaagcgttgg caggtcactg taaagacatc gttgtgacaa ttcatgagga caactcggtt 120
 tcagttacgg atgatggacg tggcattcca acagaaatgc acccagaaga aaacgtatct 180
 gctgcagaag ttatcatgac ggtacttcac gctggtggta agttcgatga taattcatal 240
 aaagtatcag gcggtctaca cggcgtaggt gtttcagtag taaacgcact gtctgagaaa 300
 gtggttctga ctatccaccg cggcgggtcat atccatacgc aaacttacca tcatggtgag 360
 cctcaagcgc cactagcagt aattggtgat actgaaaaaa cgggtacaca aatccgtttc 420
 tggccaagtg cagaaacatt ctcgaaacaa gaatttcact acgacatcct agcgaagcgt 480
 ctacgtgaac ttctcttctt gaactctggt ttttcaatca aactggttga tgagcgcgaa 540
 gcagacaaga gcgaccactt catgtttgaa ggtggtatcc aagcgttctg tgagcaccta 600
 aacactaaca aaacaccaat catcgagaaa atcttcact tcgactttga gcgcgaagat 660
 ggcactctcg tagaagttgc gatgcagtgg aatgacggtt tccaagagaa catctactgt 720

```

tttactaaca acatcccaca acgtgacggt ggtactcacc ttgccggttt ccgtgcggcg 780
ctaacgcgta cactgaactc ttcatggac aaagaaggct tctctaagaa agcgaataca 840
gcaacgctctg gtgatgacgc gcgtgaagggt ctaactgcgg ttgtttcagt taaagtcca 900
gatccgaagt tctctagcca aacgaaagac aaactggttt cttctgaagt gaagtcagcg 960
gttgaatcag caatgggtga gaaactgtct gagttcctga ttgagaaccc gacagaagcg 1020
aagatgggtt gtgcgaaat catcgacgca gctcgtgctc gtaagctgc gcgtaaagct 1080
cgtgaaatga ctctcgttaa aggcgctcta gacctagcag gcttaccagg caaacttgca 1140
gactgtcagg aaaaagatcc tgcactctct gaactgtaca tagtgagggg tgattcggca 1200
ggcggctccg caaaacaagg ccgtaaccgt aagaaccaag caatcctacc gctaaaaggt 1260
aagattctta acgtagaaaa agcgcgattc gacaagatgc ttctttctca agaggtagca 1320
acgctgatta ctgcactagg ttgtggtatc ggctcgtgac agtacaaccc ggacaaactg 1380
cgttaccaca acatcatcat c 1401

```

【0084】

```

<:210>: 28
<:211>: 1401
<:212>: DNA
<:213>: Vibrio diazotrophicus
<:400>: 28

```

```

actgatgatg gcaccggtct acaccacatg gtttttgagg tgggtgataa ctcaatagat 60
gaagcgtagg caggtcactg taaagacatc atcgttacta ttcacgaaga taactcagta 120
tcggttagcg atgacggccg tggatatcca actgaactgc acgaagaaga aaatgtttct 180
gcggcagaag ttatcatgac agtactgcac gctggtggta agttcgatga taactcttac 240
aaagtatcag gtggtctgca tggcgtagggt gtgtcagtgg ttaacgcact atcagaaaaa 300
gtgcttctga ctattttaccg cgggtggtcac atccatactc aaacctatcg ccatggtgtg 360
cctcaagcgc cactaagcgt tgttgggtgat actgaaaaaa cagggtacaac ggttcgtttc 420
tggccaagtg ctgacacctt taccaatato gaattccatt acgatattct tgctaaacgt 480
ctacgtgagc ttctattcct aaactcaggc gtatcaatca aactgattga tgagcgtgaa 540
gaagataaac aagaccactt tatgtatgaa ggtggtatcc aagcgtttgt tactcacctt 600
aaccgcaaca aaactccgat tcatgagaaa gtgttcact ttaactcaga acgtgaagac 660
ggtattagcg ttgaagtagc gatgcagtgg aacgacggtt tccaagaagg tatttactgc 720
tttaccacaa acatcccaca gcgtgatggt ggtactcact tagccggttt ccgtgcagcg 780
ttaactcgta cgttaaacac ctacatggat aaagaaggct acagcaagaa agccaaacag 840
cgaacatctg gtgacgatgc gcgtgaagggt ttgactgcag ttgtctcggg taaagttccg 900
gatccaaaat tctcaagcca aaccaaagac aaactggttt cttctgaagt gaaatctgca 960
gttgaatctg caatgggcca gaaacttaac gagttcctag ctgagcatcc ttctgaagca 1020
aaaatgggtg ttagcaaaaat tatcgatgag gcacgtgcac gtaagcagc gcgtaaagct 1080
cgtgagatga ctctcgttaa aggcgcgttg gaccttgctg gctttccagg taaacttgct 1140
gactgtcagg aaaaagatcc tgcactgtct gaactgtaca tagtgagggg tgactctgct 1200
ggcgggttcag ctaagcaggg acgtaaccga aagaaccaag caattcttcc gctgaaaggt 1260
aagattctaa acgttgaaaa agcacgtttt gataaatgc ttctttctca ggaagtggca 1320
acactgatta ctgcattagg ttgtggtatc ggctcgcgat aatacaaccc agataaactg 1380
cgctaccaca acatcatcat c 1401

```

【0085】

```

<:210>: 29
<:211>: 1389
<:212>: DNA
<:213>: Vibrio gazogenes
<:400>: 29

```

```

ggtacgggtc tgcaccacat ggtctttgag gtggtagata actcaattga tgaagcgta 60
cggggttact gtaaagatat catcgtgacg attcacgaag ataactccgt ctacgtcagt 120

```

```

gatgacggtc gtggtattcc gactgagctt cacgaggaag aaaatgtgtc tgcggcagaa 180
gttatcatga cagtgctgca cgcaggcggg aaatttgacg ataactcgta caaagtttcc 240
ggtggtttgc atgggtgtggg tatctcggtc gtgaacgctt tgtctgaaaa ggttgccctg 300
acaatttata gtagtggcca catttatact cagacttata atcacgggtg gccacagtca 360
ccattggctt ccgtaggaga taccgaaaag tccggaaccc tggcccggtt ctggccgagt 420
agtgaacact ttaccaatat tgaattccat tatgaaattc ttgccaaacg cctgcgtgag 480
ttgtctttcc ttaactccgg tgtttcaatc aaactcattg atgaacgtga tagcaaacag 540
gatcacttca ggtatgaagg cggatttcag gaattcgtat cgcacctgaa ccgcaataaa 600
acaccgatcc atgaccgtgt cttccacttt aatcaggagc gggaagatgg cattacgggt 660
gaagtcgcaa tgcagtggaa tgacagtttt caggaaagta ttttctgctt taccaataac 720
attcctcagc gtgatggcgg gacgcacatg gctggtttcc gggcggcatt gactcggacg 780
ctgaacacgt tcatggacaa agaaggcttc agcaaaaaag agaaaacatc gacatccggt 840
gatgatgccc gtgaagggtt gacggctgtt atctcagtga aagtgcggga tcctaaattc 900
tccagccaaa ctaaagacaa actggtttct tcagaagtga aatctgcggt tgaaaccccg 960
atgggtgaaa aattatcaga gtttctgatt gagaacccga atgaagccaa aattgtttgt 1020
tcgaaaatta ttgatgcagc gcgtgctcgt gaagcggctc gtaaagcgcg cgagatgaca 1080
cgtcgtaaag gcgcgttgga tctcgcgggt ctgccgggca aactggccga ctgtcaggaa 1140
aaagaccagc ccctttctga actatatatt gtggagggtg actcggctgg tggctctgcc 1200
aaacaaggcc gaaaccggaa aaatcaggct attttgccgc tgaaaggtaa gatccttaac 1260
gttgaaaaag cccgctttga caaaatgcta tcgtctcagg aagtagcaac attgattacc 1320
gcgttaggtt gcggcattgg ccgtgacgaa tataacccgg acaaaactgcg ctatcacat 1380
atcatcatc 1389

```

【0086】

```

<:210>: 30
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella flexneri, Shigella sonnei, Shige
lla boydii, E coli 0157, Enterobacter cloacae and Enterobacter aerogenes
<:400>: 30
caagaacaaa acgcc 15

```

【0087】

```

<:210>: 31
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella flexneri
<:400>: 31
attggcgttg aagtg 15

```

【0088】

```

<:210>: 32
<:211>: 15
<:212>: DNA
<:213>: Artificial Sequence
<:220>:
<:223>: DNA probe for detecting Shigella boydii and Salmonella paratyphiA
<:400>: 32
cgatccatcc gaata 15

```

【0089】

<:210>: 33
 <:211>: 17
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Shigella sonnei* and *Salmonella paratyphiA*
 <:400>: 33
 ttctccactg aaaaaga 37

【0090】

<:210>: 34
 <:211>: 17
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphiA*,
Salmonella paratyphiB, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella chester*, *Salmo*
nella oranienburg and *Salmonella typhimurium*
 <:400>: 34
 aacaagaata aaacgcc 17

【0091】

<:210>: 35
 <:211>: 13
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella paratyphiB* and *Salmonella ente*
ritidis
 <:400>: 35
 cggcgtcgaa gta 13

【0092】

<:210>: 36
 <:211>: 13
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella chester*, *Sal*
monella oranienburg and *Salmonella typhimurium*
 <:400>: 36
 cggcgtggaa gta 13

【0093】

<:210>: 37
 <:211>: 19
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphiA*,
Salmonella paratyphiB and *Salmonella oranienburg*
 <:400>: 37
 tgaatatctc aacaagaat 19

【0094】

<:210>: 38
 <:211>: 17
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*
 and *Salmonella aerogenes*
 <:400>: 38
 atcttctatt tctccac

17

【0095】

<:210>: 39
 <:211>: 13
 <:212>: DNA
 <:213>: Artificial Sequence
 <:220>:
 <:223>: DNA probe for detecting *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi B*,
Salmonella enteritidis, *Salmonella chester*, *Salmonella oranienburg*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* 0157 and *Enterobacter aerogenes*
 <:400>: 39
 acggtatcgg cgt

13

【図面の簡単な説明】

【図1】 シゲラ属3種及びサルモネラ属6種のgyrB遺伝子内の領域の塩基配列を整列させて示す図である。

【図2】 図1の続きである。

【図3】 図3の続きである。

【図4】 シゲラ属3種、サルモネラ属7種、大腸菌0157、エルシニア属2種、エンテロバクター属2種及びビブリオ属4種のgyrB遺伝子内の領域の塩基配列を整列させて示す図である。

【図5】 図4の続きである。

【図6】 図5の続きである。

【図7】 図6の続きである。

【図8】 図7の続きである。

【図9】 図8の続きである。

【図10】 図9の続きである。

【図11】 図10の続きである。

【図12】 実施例4のDNAチップを用いた検査の結果（陽性スポットのパターン）を示す図である。

【図13】 実施例4のDNAチップを用いた検査の結果（陽性スポットのパターン）を示す図である。

【圖 1】

Shigella flexneri	1	GATAACTCTATAAAGTGTCCGGCGGTCTGCACGGCGTTGGTGTTCGGTAGTAAACGCC	60
Shigella boydii	1	60
Shigella sonnei	1	60
Salmonella typhi	1C.....T.....G..G..C..C.....C.....T	60
Salmonella paratyphiA	1C.....T.....G..G..C..C.....T.....T	60
Salmonella typhimurium	1C.....C.....G..C..C.....C.....T	60
Salmonella chester	1C.....C.....G..C..C.....C.....T	60
Salmonella enteritidis	1C..T..T.....G..C..C.....C.....T	60
Salmonella oranienburg	1C.....T.....G..C..C.....C.....T	60

Shigella flexneri	61	CTGTCCGCAAAACTGGAGCTGTTTATTCAGCGCGAGGGTAAATTCACCGTCAGATCTAC	120
Shigella boydii	61C.....	120
Shigella sonnei	61C.....	120
Salmonella typhi	61C.....A..T..C.....	120
Salmonella paratyphiA	61A.....C.....A..T..C.....	120
Salmonella typhimurium	61A.....C.....A..T..C.....	120
Salmonella chester	61A.....C.....A..T..C.....	120
Salmonella enteritidis	61A.....C.....A..T..C.....	120
Salmonella oranienburg	61A.....C.....A..T..C.....	120

Shigella flexneri	121	GAAACACGGTGTAACCGCAGGCTCCGCTGGCGGTTACCGGCGAGACTGAAAAACCGGCACC	180
Shigella boydii	121	180
Shigella sonnei	121A..T.....	180
Salmonella typhi	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180
Salmonella paratyphiA	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180
Salmonella typhimurium	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180
Salmonella chester	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180
Salmonella enteritidis	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180
Salmonella oranienburg	121	..G....C..G.....A..C.....C..C..T....T..C..T.....G	180

Shigella flexneri	181	ATGGTGCGTTTCTGGCCGAGCCTCGAAACCTTCACCAATGTGACCGAGTTCGAATATGAA	240
Shigella boydii	181	240
Shigella sonnei	181	240
Salmonella typhi	181A.....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G	240
Salmonella paratyphiA	181A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G	240
Salmonella typhimurium	181A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G	240
Salmonella chester	181A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G	240
Salmonella enteritidis	181A.....G...A.....T..C..C..T..A..T.....G	240
Salmonella oranienburg	181A.....G...A.....C..C..T..A..T.....G	240

Shigella flexneri	241	ATTCTGGCGAAACGTCGCGTGAGTTGTCTCTCAACTCGGCGTTTCCATTCTGCTCTG	300
Shigella boydii	241	300
Shigella sonnei	241	300
Salmonella typhi	241	..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..	300
Salmonella paratyphiA	241	..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..	300
Salmonella typhimurium	241	..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..	300
Salmonella chester	241	..C.....C.....AC...A...G...A.....C..C..	300
Salmonella enteritidis	241	..C.....C.....AC...A...G...T.....C..C..	300
Salmonella oranienburg	241	..C.....C.....AC...A...G...A.....C..T..C..C..	300

Shigella flexneri	301	CGCGACAAAGCGTGACGCGCAAGAAGACCACTTCACTATGAAGGCGGCATCAAAGCGTTC	360
Shigella boydii	301G.....	360
Shigella sonnei	301C.....	360
Salmonella typhi	301C..T.....T..T.....C.....G.....T	360
Salmonella paratyphiA	301C.....T..T.....C.....G..A..T	360
Salmonella typhimurium	301C..T.....T..T.....C.....G.....T	360
Salmonella chester	301C..T.....T..T.....C.....G.....T	360
Salmonella enteritidis	301C..T.....T..T.....C.....G.....T	360
Salmonella oranienburg	301C..T.....T..T.....C.....G.....T	360

Shigella flexneri	361	GTTGAATATCTGAACAAGAAACAAACGCGATCCACCCAAATATCTTCTACTCTCCACC	420
Shigella boydii	361T..G.....	420
Shigella sonnei	361G.....T	420
Salmonella typhi	361C.....T.....G.....T.....T	420
Salmonella paratyphiA	361C.....T.....T.....G.....T.....T	420
Salmonella typhimurium	361T.....G.....T.....	420
Salmonella chester	361T.....G.....	420
Salmonella enteritidis	361T.....G.....	420

【圖 2】

Salmonella oranienburg	361C.....T.....G.....	420
Shigella flexneri	421	GAAGAGACGGTATTGGCGTGAAGTGGCGCTGCAGTGAACGATGGCTTCCAGGAAAA	480
Shigella boydii	421C.....T.....	480
Shigella sonnei	421C.....T.....	480
Salmonella typhi	421C.....G.....A.....T.....	480
Salmonella paratyphiA	421C.....A.....C.....A.....T.....	480
Salmonella typhimurium	421C.....G.....A.....T.....	480
Salmonella chester	421C.....G.....A.....T.....	480
Salmonella enteritidis	421C.....C.....A.....T.....	480
Salmonella oranienburg	421C.....G.....A.....T.....	480
Shigella flexneri	481	ATCTACTGCTTTACCAACAACTTCCGACGCGTACCGCGGTACTCACTGGCAGGCTTC	540
Shigella boydii	481	540
Shigella sonnei	481	540
Salmonella typhi	481C.....	540
Salmonella paratyphiA	481C.....T.....	540
Salmonella typhimurium	481C.....T.....	540
Salmonella chester	481C.....	540
Salmonella enteritidis	481T.....	540
Salmonella oranienburg	481C.....	540
Shigella flexneri	541	CGTGCGCGATGACCCGTACCTGAATGCCTACATGGACAAAGAAGCTACAGCAAAAA	600
Shigella boydii	541C.....	600
Shigella sonnei	541C.....	600
Salmonella typhi	541C.....G.....C.....	600
Salmonella paratyphiA	541G.....C.....	600
Salmonella typhimurium	541G.....C.....	600
Salmonella chester	541C.....G.....C.....	600
Salmonella enteritidis	541G.....C.....	600
Salmonella oranienburg	541C.....G.....C.....	600
Shigella flexneri	601	GCCAAAGTCAGCGCCACCGGTGACGATGCGCGTGAAGGCTGATTGCGGTGTTTCCGTA	660
Shigella boydii	601T.....	660
Shigella sonnei	601T.....	660
Salmonella typhi	601C.....C.....T.....G.....	660
Salmonella paratyphiA	601C.....C.....T.....G.....	660
Salmonella typhimurium	601C.....C.....T.....G.....	660
Salmonella chester	601T.....C.....T.....G.....	660
Salmonella enteritidis	601T.....C.....C.....T.....G.....	660
Salmonella oranienburg	601C.....C.....T.....G.....	660
Shigella flexneri	661	AAAGTCCCGGACCCGAAATTCCTCCAGACCAAGACAACTGGTTCTTCTGAGGTG	720
Shigella boydii	661T.....	720
Shigella sonnei	661	720
Salmonella typhi	661A.....T.....G.....C.....C.....	720
Salmonella paratyphiA	661A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....	720
Salmonella typhimurium	661A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....	720
Salmonella chester	661A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....	720
Salmonella enteritidis	661A.....T.....A.....T.....G.....C.....C.....	720
Salmonella oranienburg	661G.....T.....G.....C.....C.....	720
Shigella flexneri	721	AAATCGCGGTTGAACAGCAGATGAACGAACTGCTGCGGAATACCTGCTGGAAACCCA	780
Shigella boydii	721A.....	780
Shigella sonnei	721A.....	780
Salmonella typhi	721A.....AGC.....	780
Salmonella paratyphiA	721G.....AGC.....	780
Salmonella typhimurium	721A.....AGC.....	780
Salmonella chester	721A.....T.....AGC.....	780
Salmonella enteritidis	721G.....AGC.....T.....	780
Salmonella oranienburg	721A.....T.....AGC.....	780
Shigella flexneri	781	ACTGATGCGAAATCGTGGTTGGCAAAATTATCGATGCTGCCCGTGCCCGTGAAAGCGCGG	840
Shigella boydii	781C.....	840
Shigella sonnei	781C.....	840
Salmonella typhi	781C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840
Salmonella paratyphiA	781T.....C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840
Salmonella typhimurium	781T.....C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840
Salmonella chester	781T.....C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840
Salmonella enteritidis	781T.....C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840
Salmonella oranienburg	781T.....C.....C.....C.....C.....G.....G.....	840

【図3】

.			
Shigella flexneri	841	CGTCGGCGCGGTGAAATGACCCGCCGTAAAGGTGCGCTCGACTTAGCTGGCCTGCCGGGC	900
Shigella boydii	841G.....	900
Shigella sonnei	841G.....	900
Salmonella typhi	841C.....T.....C.....G.....T.....C.....T.....	900
Salmonella paratyphiA	841C.....T.....C.....G.....T.....C.....T.....	900
Salmonella typhimurium	841C.....T.....C.....T.....C.....T.....	900
Salmonella chester	841CA.....T.....C.....T.....C.....T.....	900
Salmonella enteritidis	841CA.....T.....C.....G.....T.....G.....	900
Salmonella oranienburg	841	G.....C.....T.....C.....T.....C.....T.....	900
.			
Shigella flexneri	901	AAACTGGCAGACTGCCAGGAACGGATCCGGCGCTTTCGAACTGTACCTGGTGGAGGG	960
Shigella boydii	901	960
Shigella sonnei	901	960
Salmonella typhi	901G.....T.....C.....G.....	960
Salmonella paratyphiA	901G.....C.....G.....	960
Salmonella typhimurium	901G.....T.....C.....G.....	960
Salmonella chester	901G.....C.....G.....	960
Salmonella enteritidis	901G.....C.....G.....	960
Salmonella oranienburg	901G.....C.....G.....	960
.			
Shigella flexneri	961	GACTCCGCGGGCGCTCTCGGAAGCAAGGGCGTAACCGCAAGAACCGCGATTCTGCCG	1020
Shigella boydii	961	1020
Shigella sonnei	961A.....	1020
Salmonella typhi	961	1020
Salmonella paratyphiA	961	1020
Salmonella typhimurium	961	1020
Salmonella chester	961	1020
Salmonella enteritidis	961	1020
Salmonella oranienburg	961	1020
.			
Shigella flexneri	1021	CTGAAGGGTAAATCCTTAAAGTCGAGAAAGCGCGCTTCGATAAGATGCTCTCTCTCAG	1080
Shigella boydii	1021C.....T.....	1080
Shigella sonnei	1021C.....T.....	1080
Salmonella typhi	1021A.....C.....T.....C.....C.....	1080
Salmonella paratyphiA	1021A.....C.....C.....C.....	1080
Salmonella typhimurium	1021A.....C.....T.....C.....C.....	1080
Salmonella chester	1021A.....C.....C.....C.....	1080
Salmonella enteritidis	1021A.....C.....C.....C.....	1080
Salmonella oranienburg	1021C.....C.....C.....	1080
.			
Shigella flexneri	1081	GAAAGTGGCGACGCTTATACCGCGCTTGCTGTGGTATCGGTGACGAGTACAACCCG	1140
Shigella boydii	1081	1140
Shigella sonnei	1081	1140
Salmonella typhi	1081G.....G.....C.....C.....	1140
Salmonella paratyphiA	1081G.....T.....G.....C.....C.....	1140
Salmonella typhimurium	1081G.....G.....C.....C.....	1140
Salmonella chester	1081G.....T.....G.....C.....C.....	1140
Salmonella enteritidis	1081G.....G.....C.....C.....	1140
Salmonella oranienburg	1081T.....G.....A.....G.....C.....C.....	1140
.			
Shigella flexneri	1141	GACAAACTGCGTTATCACAGCATCATCATG	1173
Shigella boydii	1141	1173
Shigella sonnei	1141	1173
Salmonella typhi	1141G.....C.....	1173
Salmonella paratyphiA	1141G.....C.....	1173
Salmonella typhimurium	1141G.....C.....	1173
Salmonella chester	1141G.....C.....	1173
Salmonella enteritidis	1141G.....C.....	1173
Salmonella oranienburg	1141C.....T.....	1173
.			

【圖 4】

<i>S. flexneri</i>	1	-----	1
<i>S. sonnei</i>	1	-----	1
<i>S. boydii</i>	1	-----	1
<i>S. typhi</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila B</i>	1	-----	1
<i>S. enteritidis</i>	1	-----	1
<i>S. chester</i>	1	-----	1
<i>S. oranienburg</i>	1	-----	1
<i>S. typhimurium</i>	1	-----	1
<i>E. coli</i> O157	1	-----	1
<i>Y. enterocolitica</i>	1	-----	1
<i>Y. ruckeri</i>	1	-----	1
<i>E. cloacae</i> #P1	1	-----	1
<i>E. aerogenes</i>	1	-----	1
<i>V. alginolyticus</i>	1	-----	1
<i>V. campbellii</i>	1	ACGGACGACGGCACTGGCTTCACCACATGGTCTTCGAGGTGGTGGATAACTCAATTGAT	60
<i>V. diazotrophicus</i>	1	ACTGATGATGGCACCGGCTACACCACATGGTCTTTGAGGTGGTGGATAACTCAATTAGAT	60
<i>V. gazogenes</i>	1	-----GGTACGGGCTTCACCACATGGTCTTTGAGGTGGTAGATAACTCAATTGAT	51

<i>S. flexneri</i>	1	-----	1
<i>S. sonnei</i>	1	-----	1
<i>S. boydii</i>	1	-----	1
<i>S. typhi</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila B</i>	1	-----	1
<i>S. enteritidis</i>	1	-----	1
<i>S. chester</i>	1	-----	1
<i>S. oranienburg</i>	1	-----	1
<i>S. typhimurium</i>	1	-----	1
<i>E. coli</i> O157	1	-----	1
<i>Y. enterocolitica</i>	1	-----	1
<i>Y. ruckeri</i>	1	-----	1
<i>E. cloacae</i>	1	-----	1
<i>E. aerogenes</i>	1	-----	1
<i>V. alginolyticus</i>	1	-----	1
<i>V. campbellii</i>	61	GAAGCGTTGGCAGGTCACTGTAAAGACATCGTTGTGACAATTCATGAGGACAACTCGGTT	120
<i>V. diazotrophicus</i>	61	GAAGCGTTAGCAGGTCACTGTAAAGACATCATCGTTACTATTCACGAAGATAACTCAGTA	120
<i>V. gazogenes</i>	52	GAAGCGTTAGCAGGTCACTGTAAAGATATCATCGTTGACGATTCACGAAGATAACTCCGTC	111

<i>S. flexneri</i>	1	-----	1
<i>S. sonnei</i>	1	-----	1
<i>S. boydii</i>	1	-----	1
<i>S. typhi</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila</i>	1	-----	1
<i>S. paratyphila B</i>	1	-----	1
<i>S. enteritidis</i>	1	-----	1
<i>S. chester</i>	1	-----	1
<i>S. oranienburg</i>	1	-----	1
<i>S. typhimurium</i>	1	-----	1
<i>E. coli</i> O157	1	-----	1
<i>Y. enterocolitica</i>	1	-----	1
<i>Y. ruckeri</i>	1	-----	1
<i>E. cloacae</i>	1	-----	1
<i>E. aerogenes</i>	1	-----	1
<i>V. alginolyticus</i>	1	-----	1
<i>V. campbellii</i>	121	TCAGTTACGGATGATGGACGTGGCATTCCACAGAAATGCACCCAGAGAAAAACGTATCT	180
<i>V. diazotrophicus</i>	121	TCGGTTAGCGATGACGGCCGTGGTATCCCAACTGAACTGCACGAGAGAAAAATGTTTCT	180
<i>V. gazogenes</i>	112	TCAGTCAGTGATGACGGTCTGGTATTCGCACTGAGCTTCACGAGGAGAAAAATGTGTCT	171

【図5】

<i>S. flexneri</i>	1	-----CGATAACTCCTAT	13
<i>S. sonnei</i>	1	-----	13
<i>S. boydii</i>	1	-----	13
<i>S. typhi</i>	1	-----	13
<i>S. paratyphiA</i>	1	-----	13
<i>S. paratyphiB</i>	1	-----	13
<i>S. enteritidis</i>	1	-----	13
<i>S. chester</i>	1	-----	13
<i>S. oranienburg</i>	1	-----	13
<i>S. typhimurium</i>	1	-----	13
<i>E. coli</i> O157	1	-----	13
<i>Y. enterocolitica</i>	1	-----G..C	13
<i>Y. ruckeri</i>	1	-----	1
<i>E. cloacae</i>	1	-----	13
<i>E. aerogenes</i>	1	-----T	13
<i>V. alginolyticus</i>	1	-----A..C	12
<i>V. campbellii</i>	181	GCTGCAGAAAGTTATCATGACGGTACTTCACGCTGGTGGTAAGTTCGAT.....T..A..C	240
<i>V. diazotrophicus</i>	181	GCGGCAGAAAGTTATCATGACAGTACGCCACGCTGGTGGTAAGTTCGAT.....T..C	240
<i>V. gazogenes</i>	172	GCGGCAGAAAGTTATCATGACAGTCTGCACGCGAGCGGGAATTGA.....G..C	231

<i>S. flexneri</i>	14	AAAGTGTCGGCGGTCTGCACGGCGTTTCGTGTTTCGGTACTAAACGCCCTGTCTCGCAAAAA	73
<i>S. sonnei</i>	14	-----	73
<i>S. boydii</i>	14	-----	73
<i>S. typhi</i>	14C....T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>S. paratyphiA</i>	14C....T.....G..C..C.....T.....	73
<i>S. paratyphiB</i>	14C....T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>S. enteritidis</i>	14C..T..T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>S. chester</i>	14C....T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>S. oranienburg</i>	14C....T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>S. typhimurium</i>	14C....T.....G..C..C.....C....T.....	73
<i>E. coli</i> O157	14	-----	73
<i>Y. enterocolitica</i>	14T....T....T.....A....A..C..T..T.....TG....	73
<i>Y. ruckeri</i>	1	-----GT....T....G....A..T..T.....TG....	51
<i>E. cloacae</i>	14T....C.....A.....G..G	73
<i>E. aerogenes</i>	14A..C..C.....G..T.....G..G	73
<i>V. alginolyticus</i>	13A..G..T....T....G....A.....A..A..AG..G...	72
<i>V. campbellii</i>	241A..A.....A.....A.....A.....TG..G...	300
<i>V. diazotrophicus</i>	241A..A..T....T....A....G..A..G..T....A..A..AG....	300
<i>V. gazogenes</i>	232T....T....T....T..T..G....A..C....C..G....TT....TG....G	291

<i>S. flexneri</i>	74	CTGGAGCTGGTTATTCAGCGCGAGGTAAAAATTCACCGTCAGATCTACGAACACGGTGTA	133
<i>S. sonnei</i>	74	-----C.....	133
<i>S. boydii</i>	74	-----C.....	133
<i>S. typhi</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. paratyphiA</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. paratyphiB</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. enteritidis</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. chester</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. oranienburg</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>S. typhimurium</i>	74A.....C....A..T..C.....G....C..G	133
<i>E. coli</i> O157	74	-----	133
<i>Y. enterocolitica</i>	74G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..GATG....G	133
<i>Y. ruckeri</i>	52T....G....GC..T..A.....G....GAG....CT...A..ATG....G	111
<i>E. cloacae</i>	74C....C....A..C.....C..T...ACG....C..G	133
<i>E. aerogenes</i>	74C....A....TAAC...G....AAA..A..T..T..G....G	133
<i>V. alginolyticus</i>	73	G..T....AAGC....T..T..GT...CC..T..C..TACG...A..C....CGC...T....AG	132
<i>V. campbellii</i>	301	G...TT...AC...C...C....GC...C..T..C..TACG...A..CT...C..T....AG	360
<i>V. diazotrophicus</i>	301	G..CTT...AC...T..C....GT...C..C..C..TAC...A..C....TCGC...T....G	360
<i>V. gazogenes</i>	292	G..T..CC...ACA...T..T..TAGT...CC..C...T..TAC...CT...TC..T....G	351

【圖 6】

<i>S. flexneri</i>	134	CCGCAGGCTCCGCTGGCGGTTACCGCGGAGACTGAAAAAACCGGCACCATGGTGGGTTTC	193
<i>S. sonnei</i>	134A...T.....	193
<i>S. boydii</i>	134	193
<i>S. typhi</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. paratyphila</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. paratyphiB</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. enteritidis</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. chester</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. oranienburg</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>S. typhimurium</i>	134A..C.....C..C..T.....T..C..T.....G.....A.....	193
<i>E. coli</i> O157	134A.....	193
<i>Y. enterocolitica</i>	134A..AT..AAA..GGTG.....A..C..TC.....G..A..CC.....	193
<i>Y. ruckeri</i>	112A..A..A..AAAA..GGTG..T..A..C..TC..G.....G..T..C.....	171
<i>E. cloacae</i>	134A.....C.....T.....A..C..C.....T.....	193
<i>E. aerogenes</i>	134A.....A.....T..A..C.....GC.....T.....	193
<i>V. alginolyticus</i>	133	..T..A..G..A..A..C..GFG..T..T..G..T.....T..ACAAA..T.....	192
<i>V. campbellii</i>	361	..T..A..G..A..A..A..AT..T..T.....G..T..ACAAA..C.....	420
<i>V. diazotrophicus</i>	361	..T..A..G..A..A..A..AT..T..T.....A..T..A..C.....	420
<i>V. gazogenes</i>	352	..A...T..A..AT...TTCCGTA..A..T..C.....GT...A...C...C..G...	411

<i>S. flexneri</i>	194	TGGCCAGCCTCGAACCTTCACCAATGTGACCGAGTTCGAATATGAAAATCTGGCGAAA	253
<i>S. sonnei</i>	194	253
<i>S. boydii</i>	194	253
<i>S. typhi</i>	194G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. paratyphila</i>	194G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. paratyphiB</i>	194G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. enteritidis</i>	194G...A.....T..C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. chester</i>	194G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. oranienburg</i>	194G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>S. typhimurium</i>	194G...A.....C..C..T..A..T.....G..C.....	253
<i>E. coli</i> O157	194G...T..C..G..G.....AAT.....A..C.....C.....A...	253
<i>Y. enterocolitica</i>	194G...T..C..G..G.....AAC.....A..TC.....C.....	231
<i>Y. ruckeri</i>	172G...T..C..G.....AAC.....A..TC.....C.....	231
<i>E. cloacae</i>	194G.....C..C.....G..C..C.....C.....	253
<i>E. aerogenes</i>	194A.....G.....T.....C..C..T..A.....C.....C.....	253
<i>V. alginolyticus</i>	193A..TGC...G..G...T..T..CACTGAGTTCCA---...C.....	249
<i>V. campbellii</i>	421A..TGCA...A...T..G..CACAGAA7---TC.C..C..C..A.....G	477
<i>V. diazotrophicus</i>	421A..TGCT..C.....T.....A..CGAA7---C.T..C..T.....T..T...	477
<i>V. gazogenes</i>	412G..TAGT.....T.....A..TGAA7---C.T.....T..C...	468

<i>S. flexneri</i>	254	CGTCGCGTGAGTTGTCGCTTCCTCAACTCCGGCGTTTCCATTCGTCTGCGCGACAAGCGT	313
<i>S. sonnei</i>	254C	313
<i>S. boydii</i>	254	313
<i>S. typhi</i>	254	..C.....AC...A.....G.....A.....C..C.....C	313
<i>S. paratyphila</i>	254	..C.....AC...A.....G.....T.....C..C.....C	313
<i>S. paratyphiB</i>	254	..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C	313
<i>S. enteritidis</i>	254	..C.....AC...A.....G.....T.....C..C.....C	313
<i>S. chester</i>	254	..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C	313
<i>S. oranienburg</i>	254	..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C	313
<i>S. typhimurium</i>	254	..C.....AC...A.....G.....A.....C.....C.....C	313
<i>E. coli</i> O157	254	313
<i>Y. enterocolitica</i>	254C.....G.....T..G.....A..CAAG...AAA.....A...	313
<i>Y. ruckeri</i>	232	..CT.....C.....G.....A..CAAA...AAA.....A...	291
<i>E. cloacae</i>	254	..C.....AC...A.....C.....C..G.....C.....A..C	313
<i>E. aerogenes</i>	254C.....C.....G..C..T..C..C.....T.....C	313
<i>V. alginolyticus</i>	250	..C.....AC...A.....G.....T..T..G..G..CAAA7..GTT..TG..A...	309
<i>V. campbellii</i>	478A.....AC..T..C.....G.....T..T.....A..CAAA...GTT..TG...C	537
<i>V. diazotrophicus</i>	478A.....C..T..A.....A.....A..CAAA...ATT..TG...	537
<i>V. gazogenes</i>	469	..C.....T.....T.....T.....A..CAAA..CATT..TG..A...	528

【圖 7】

<i>S. flexneri</i>	314	GACGGCAAAGAAGACCA---CTTCCACTATGAAGCGCGCATCAAAGCGTTCGTTGAATAT	370
<i>S. sonnei</i>	314G.....	370
<i>S. boydii</i>	314G.....	370
<i>S. typhi</i>	314	..T.....T....T.....C.....T.....	370
<i>S. paratyphiiA</i>	314T....T.....C.....G...A...T.....	370
<i>S. paratyphiiB</i>	314T....T.....C.....G...T.....	370
<i>S. enteritidis</i>	314	..T.....T....T.....C.....G...T.....	370
<i>S. chester</i>	314	..T.....T....T.....C.....G...T.....	370
<i>S. oranienburg</i>	314	..T.....T....T.....C.....G...T.....	370
<i>S. typhimurium</i>	314	..T.....T....T.....C.....G...T.....	370
<i>E. coli O157</i>	314	370
<i>Y. enterocolitica</i>	314	A...A.....T...C.....T.....T...G...	370
<i>Y. ruckeri</i>	292	A...A.....T...C.....T.....T...G...	348
<i>E. cloacae</i>	314	...AA.....C.....T.....G...T...G...	370
<i>E. aerogenes</i>	314T.....C.....G...T...G...	370
<i>V. alginolyticus</i>	310	..A.CGG.CA..C.TG.TCA...ATG.....T..T..TC.....TC.C	369
<i>V. campbellii</i>	538	..A.CAG.CA.GAG.G.CCA...ATG.T.....T..T..C.....GC.C	597
<i>V. diazotrophicus</i>	538	..A.AAG.TA..C.AG.CCA...TATG.....T..T..C.....ACTC.C	597
<i>V. gazogenes</i>	529	..TA.....C.G..T....AGG.....T..TC.G.AA...ATCGC.C	585

<i>S. flexneri</i>	371	CTGAACAAGAACAAAACGCCGATCCACCCAAATATCTTCTACTTCTCCACCGAAAAAGAC	430
<i>S. sonnei</i>	371G.....T.....	430
<i>S. boydii</i>	371T...G.....	430
<i>S. typhi</i>	371	..C.....T.....G.....T.....	430
<i>S. paratyphiiA</i>	371	..C.....T.....T...G.....T.....	430
<i>S. paratyphiiB</i>	371	..C.....T.....G.....	430
<i>S. enteritidis</i>	371T.....G.....	430
<i>S. chester</i>	371T.....G.....	430
<i>S. oranienburg</i>	371	..C.....T.....G.....	430
<i>S. typhimurium</i>	371T.....G.....T.....	430
<i>E. coli O157</i>	371	430
<i>Y. enterocolitica</i>	371A.....AC.....G..AG.G.....T.....ATG.....T	430
<i>Y. ruckeri</i>	349A.....C.....T...G..AG.G.....T.....TATG.....T	408
<i>E. cloacae</i>	371T.....G.....	430
<i>E. aerogenes</i>	371	..C.....G.....T.....	430
<i>V. alginolyticus</i>	370	..A...CC.....A..AT.GA..A.....C....TAA.T..T..GCGT..A	429
<i>V. campbellii</i>	598	..A...CT.....A..A..AT.GAG..A.....C....GA.TTT..GCGC..A	657
<i>V. diazotrophicus</i>	598	..T...CGC.....T...T..TGAG..AG.G...C....TAA.T.A...CGT..A	657
<i>V. gazogenes</i>	586CGC..T....A.....TGACCG.G....C....TAATCAG..GCGG..A	645

<i>S. flexneri</i>	431	GGTATTGGCGTT---GAAATGGCGCTGCAGTGGAAACGATGGCTTCCAGGAAAACATCTAC	487
<i>S. sonnei</i>	431C---.....T.....	487
<i>S. boydii</i>	431C---.....T.....	487
<i>S. typhi</i>	431C....G---.....A.....T.....	487
<i>S. paratyphiiA</i>	431C....A.C---.....A.....T.....	487
<i>S. paratyphiiB</i>	431C....C---.....A.....T.....	487
<i>S. enteritidis</i>	431C....C---.....A.....T.....	487
<i>S. chester</i>	431C....G---.....A.....T.....T.....	487
<i>S. oranienburg</i>	431C....G---.....A.....T.....	487
<i>S. typhimurium</i>	431C....G---.....A.....T.....	487
<i>E. coli O157</i>	431C.....	487
<i>Y. enterocolitica</i>	431	..A...C...T..G---.....AT.....T.....T..T..	487
<i>Y. ruckeri</i>	409	AC...C...T..G---.....CT.....T.....A...T..T..	465
<i>E. cloacae</i>	431	..C...C...G---.....C...T.....	487
<i>E. aerogenes</i>	431C.....T.....	487
<i>V. alginolyticus</i>	430	ACGGCATTTCAGTT.....A...A.....T.....A..G.....T	489
<i>V. campbellii</i>	658	..A.GGCAT.TCGGTA.....T...A.....T..C...T...A..G.....	717
<i>V. diazotrophicus</i>	658	ACGG.ATTAGCGTT.....A...A.....C...T...A...GGT...T...	717
<i>V. gazogenes</i>	646	..A.GGCATTACGCTT.....C..AA.....T...CA.T..T.....GT...T.T.	705

【図8】

<i>S. flexneri</i>	488	TGCTTTACCAACACATTCGCGAGCGTGACGCGGTACTCACCTGCGCAGGCTTCCGTGCG	547
<i>S. sonnei</i>	488	547
<i>S. boydii</i>	488	547
<i>S. typhi</i>	488C.....	547
<i>S. paratyphiA</i>	488C.....T.....	547
<i>S. paratyphiB</i>	488C.....	547
<i>S. enteritidis</i>	488C.....T.....	547
<i>S. chester</i>	488C.....	547
<i>S. oranienburg</i>	488C.....	547
<i>S. typhimurium</i>	488C.....T.....	547
<i>E. coli</i> O157	488	547
<i>Y. enterocolitica</i>	488	..T..C.....A...C..T..G..G.....T..A..TC..G.....A..	547
<i>Y. ruckeri</i>	486A...C..T.....C..TT...TT..T.....A..	525
<i>E. cloacae</i>	488A.....T.....T..T.....	547
<i>E. aerogenes</i>	488C.....G.....C...	547
<i>V. alginolyticus</i>	490T..C..A.....T..T.....T..T..T.....T	549
<i>V. campbellii</i>	718	..T....T.....C..A..A.....T.....T..C..T.....	777
<i>V. diazotrophicus</i>	718C..A.....T..T.....T..A..C..T.....A	777
<i>V. gazogenes</i>	706T.....T.....T.....G..G...A...T..T.....G...	765

<i>S. flexneri</i>	548	GCGATGACCCGTACCCGTAATGCCTACATGGACAAAGAGGCTACAGCAAAAGGCCAAA	607
<i>S. sonnei</i>	548C.....	607
<i>S. boydii</i>	548C.....	607
<i>S. typhi</i>	548C..G...C.....	607
<i>S. paratyphiA</i>	548G...C.....	607
<i>S. paratyphiB</i>	548C..G...C.....	607
<i>S. enteritidis</i>	548G...C.....	607
<i>S. chester</i>	548C..G...C.....T..	607
<i>S. oranienburg</i>	548C..G...C.....	607
<i>S. typhimurium</i>	548G...C.....	607
<i>E. coli</i> O157	548	607
<i>Y. enterocolitica</i>	548T.....AG.....T.....T.....T.....G...	607
<i>Y. ruckeri</i>	526G.....G.....CAG...T.....T.....G.....G	585
<i>E. cloacae</i>	548C.....G.....G...	607
<i>E. aerogenes</i>	548C.....T.....G..G...	607
<i>V. alginolyticus</i>	550	...C..A..A...AT...CAG...TT...T.....T..TCG..G...G...	609
<i>V. campbellii</i>	778	...C..A..G...A...CT..T..T.....T..TCT..G...G...	837
<i>V. diazotrophicus</i>	778	...T..A..T...GT..A..CA.....T.....G.....	837
<i>V. gazogenes</i>	766	..AT...T..G..G....CA..G..T.....T.....AG...	825

<i>S. flexneri</i>	608	GTCAGTGCCACCCGCTGACGATGCCCGTGAAGGCGCTGATTGCGGTCGTTTCCGTAAAAGTG	667
<i>S. sonnei</i>	608	..T.....G.....	667
<i>S. boydii</i>	608T.....	667
<i>S. typhi</i>	608C.....C.....T.....G.....	667
<i>S. paratyphiA</i>	608C.....C.....T.....G.....A	667
<i>S. paratyphiB</i>	608C.....C.....T.....G.....A	667
<i>S. enteritidis</i>	608T..C.....C.....T.....G.....A	667
<i>S. chester</i>	608C..T.....C.....T.....G.....	667
<i>S. oranienburg</i>	608C.....C.....T.....G.....G..G...	667
<i>S. typhimurium</i>	608C.....C.....T.....G.....G..G...	667
<i>E. coli</i> O157	608G.....A	667
<i>Y. enterocolitica</i>	608	A...T..A.....T.....C.....T.....T..G.....G.....	667
<i>Y. ruckeri</i>	586	A...T...T..G.....C.....C..G..A..G..T...	645
<i>E. cloacae</i>	608T.....C.....C..G.....G..C...	667
<i>E. aerogenes</i>	608T.....C.....C..G.....G...	667
<i>V. alginolyticus</i>	610	ACAGCGA..TT..A..C.....T..A..C.....T.....G-----	660
<i>V. campbellii</i>	838	ACAGCAA..GT..T.....F..C.....T..A..C.....T.....A..T.....	897
<i>V. diazotrophicus</i>	838	CAGC..AA..AT..T.....TT...C...A..T..C..G..T...T	897
<i>V. gazogenes</i>	826	ACATCGA..AT.....T.....C.....GT...CG..T..TA..C..A..G.....	885

【圖 9】

<i>S. flexneri</i>	668	CCGGAACCCGAAATTCCTCCAGACCAAGACAACTGGTTTCTTCGAGGTGAAATCG	727
<i>S. sonnei</i>	668A	727
<i>S. boydii</i>	668T	727
<i>S. typhi</i>	668A.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>S. paratyphiA</i>	668T.....A.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>S. paratyphiB</i>	668T.....A.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>S. enteritidis</i>	668G.....C.....C.....	727
<i>S. chester</i>	668A.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>S. oranienburg</i>	668G.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>S. typhimurium</i>	668T.....A.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>E. coli O157</i>	668	727
<i>Y. enterocolitica</i>	668	..A.....T.....A.....T.....A.....A.T	727
<i>Y. ruckeri</i>	646T.....T.....A.....T.....T.....G.....C.....A.....A.C	705
<i>E. cloacae</i>	668T.....G.....A.....G.....C.....C.....	727
<i>E. aerogenes</i>	668T.....G.....T.....T.....G.....C.....C.....	727
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	898	..A..T.....G.....TAG...A..G.....A.....G..A	957
<i>V. diazotrophicus</i>	898T..A.....AAG...A.....A.....T	957
<i>V. gazogenes</i>	886T..T.....AG...A..T.....A.....A.....T	945

<i>S. flexneri</i>	728	GCGGTTGAACAGCAGATGACGAAGCTGCTGGCAGAAATACCTGCTGGAACCCCAACTGAT	787
<i>S. sonnei</i>	728A.....C..C	787
<i>S. boydii</i>	728A.....C..C	787
<i>S. typhi</i>	728A.....AGC.....T.....C	787
<i>S. paratyphiA</i>	728G.....AGC.....T.....C	787
<i>S. paratyphiB</i>	728A.....AGC.....T.....C	787
<i>S. enteritidis</i>	728G.....AGC.....T.....C	787
<i>S. chester</i>	728A.....T.....AGC.....T.....C	787
<i>S. oranienburg</i>	728A.....T.....AGC.....T.....C	787
<i>S. typhimurium</i>	728A.....AGC.....T.....C	787
<i>E. coli O157</i>	728T.....	787
<i>Y. enterocolitica</i>	728C.....AC..T.....GAA...TT..G..TT.....C..C	787
<i>Y. ruckeri</i>	706AC..T.....GAA..T...TC..G..TT.....GC..C	765
<i>E. cloacae</i>	728G.....AGC.....GT..C..C	787
<i>E. aerogenes</i>	728AGC.....GT..C..C	787
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	958TCAGCA...GGT...GAAA...T..T..G..T...A..T..G...G..A..A	1017
<i>V. diazotrophicus</i>	958	..A.....TCTGCA...GG...GAAA...TAAC..G..T...AGCT..GC..T..TT...A	1017
<i>V. gazogenes</i>	946ACCGC...GGT...AAAT..AT..A..G..TT...A..T..G...G..A..A	1005

<i>S. flexneri</i>	788	GCGAATAATCGTGGTTGGCAAAATTATCGATGCTGCCCGTGGCCGTGAAGCGGCGCTCGC	847
<i>S. sonnei</i>	788	847
<i>S. boydii</i>	788	847
<i>S. typhi</i>	788C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>S. paratyphiA</i>	788T..C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>S. paratyphiB</i>	788T..C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>S. enteritidis</i>	788T..C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>S. chester</i>	788T..C..C.....T.....C..G...G.....	847
<i>S. oranienburg</i>	788T..C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>S. typhimurium</i>	788C..C.....C..C..G...G.....	847
<i>E. coli O157</i>	788	847
<i>Y. enterocolitica</i>	788C.....T..C..G...T.....T.....AAA	847
<i>Y. ruckeri</i>	766C.....C...G...T.....G..T..C..T.....T..A..CAAA	825
<i>E. cloacae</i>	788G.....T.....G..G.....AAA	847
<i>E. aerogenes</i>	788C.....C..C..G...G.....C.....	847
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	1018G..G...TTG.TCG.....C.....C..A..T.....T.....AAA	1077
<i>V. diazotrophicus</i>	1018	..A.....G...TG.A.....G..A.....A.....A.....AAA	1077
<i>V. gazogenes</i>	1006	..C.....T...TTG.TCG.....T.....A..G...T.....T.....AAA	1065

【図10】

<i>S. flexneri</i>	848	CGCGCTGAAATGACCCGCCGTAAAGGTGCGCTGACTTAGCTGGCCTGCCCGGCAAACTG	907
<i>S. sonnei</i>	848G.....	907
<i>S. boydii</i>	848C.....	907
<i>S. typhi</i>	848	..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....	907
<i>S. paratyphila</i>	848	..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....	907
<i>S. paratyphiB</i>	848	..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....	907
<i>S. enteritidis</i>	848	..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....	907
<i>S. chester</i>	848	..C.....T.....C.....G..T.....C..T.....	907
<i>S. oranienburg</i>	848	..C.....T.....C.....T.....C..T.....	907
<i>S. typhimurium</i>	848	..C.....T.....C.....T.....C..T.....	907
<i>E. coli O157</i>	848G.....	907
<i>Y. enterocolitica</i>	848	..T.....A.....A..C..T..G.....T..A..A.....	907
<i>Y. ruckeri</i>	826	..C.....G..T.....G..AT..G..7C..C..C..T.....T.....GT..	885
<i>E. cloacae</i>	848	..C.....T.....C.....C.....G.....	907
<i>E. aerogenes</i>	848	..C.....T.....C.....T.....C..G..A.....	907
<i>V. alginolyticus</i>	660	660
<i>V. campbellii</i>	1078	..T.....T.....T.....C..T..A.....C.....A..T..A..A.....T	1137
<i>V. diazotrophicus</i>	1078	..T.....G.....T.....T.....C..T..G.....C..T.....T..T..A..T.....T	1137
<i>V. gazogenes</i>	1066C..G.....A..T.....C.....T..G..TC..C..G..T.....	1125

<i>S. flexneri</i>	908	GCAGACTGCCAGGAACGCGATCCGCCGCTTTCCGAAGTGTACCTGGTGGAGGGGACTCC	967
<i>S. sonnei</i>	908	967
<i>S. boydii</i>	908	967
<i>S. typhi</i>	908	..G..T..T.....C.....G.....	967
<i>S. paratyphila</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>S. paratyphiB</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>S. enteritidis</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>S. chester</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>S. oranienburg</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>S. typhimurium</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>E. coli O157</i>	908	..G.....C.....G.....	967
<i>Y. enterocolitica</i>	908	..T.....T.....T..C..A..AT..G.....C.....T..A.....A	967
<i>Y. ruckeri</i>	886	..G.....T.....AT..A..T.....T.....A.....G	945
<i>E. cloacae</i>	908	..T.....C.....C.....	967
<i>E. aerogenes</i>	908	..G..T.....C.....G..T.....C.....	967
<i>V. alginolyticus</i>	660	660
<i>V. campbellii</i>	1138T.....AAA.....T..A..C..T.....A..A.....G..T..T..G	1197
<i>V. diazotrophicus</i>	1138	..T.....T.....AAA.....T..A..G..T.....A..A.....G..T.....T	1197
<i>V. gazogenes</i>	1126	..C.....T.....AAA..C..A..C.....T.....A..TA..T.....G..T.....G	1185

<i>S. flexneri</i>	968	CGCGCTGCTCTGCGAAGCAGGGGCGTAACCGCAAGACCAAGCGATTCTGCCGCTGAAG	1027
<i>S. sonnei</i>	968A.....	1027
<i>S. boydii</i>	968	1027
<i>S. typhi</i>	968	1027
<i>S. paratyphila</i>	968A	1027
<i>S. paratyphiB</i>	968A	1027
<i>S. enteritidis</i>	968A	1027
<i>S. chester</i>	968A	1027
<i>S. oranienburg</i>	968	1027
<i>S. typhimurium</i>	968	1027
<i>E. coli O157</i>	968A	1027
<i>Y. enterocolitica</i>	968A..A..C.....T..A..T.....T.....T.....A	1027
<i>Y. ruckeri</i>	946	..T.....A..G..A..A..A..C.....T.....T.....A.....A	1005
<i>E. cloacae</i>	968T.....C.....	1027
<i>E. aerogenes</i>	968A.....C.....T.....T.....C.....	1027
<i>V. alginolyticus</i>	660	660
<i>V. campbellii</i>	1198	..A.....C..A..A..A..C.....T.....A..A..C..A.....A..A	1257
<i>V. diazotrophicus</i>	1198	..T.....T..A..T.....A.....A.....A.....T.....A	1257
<i>V. gazogenes</i>	1186	..T..T.....C..A..A..C..A.....G..A..T.....T.....T.....A	1245

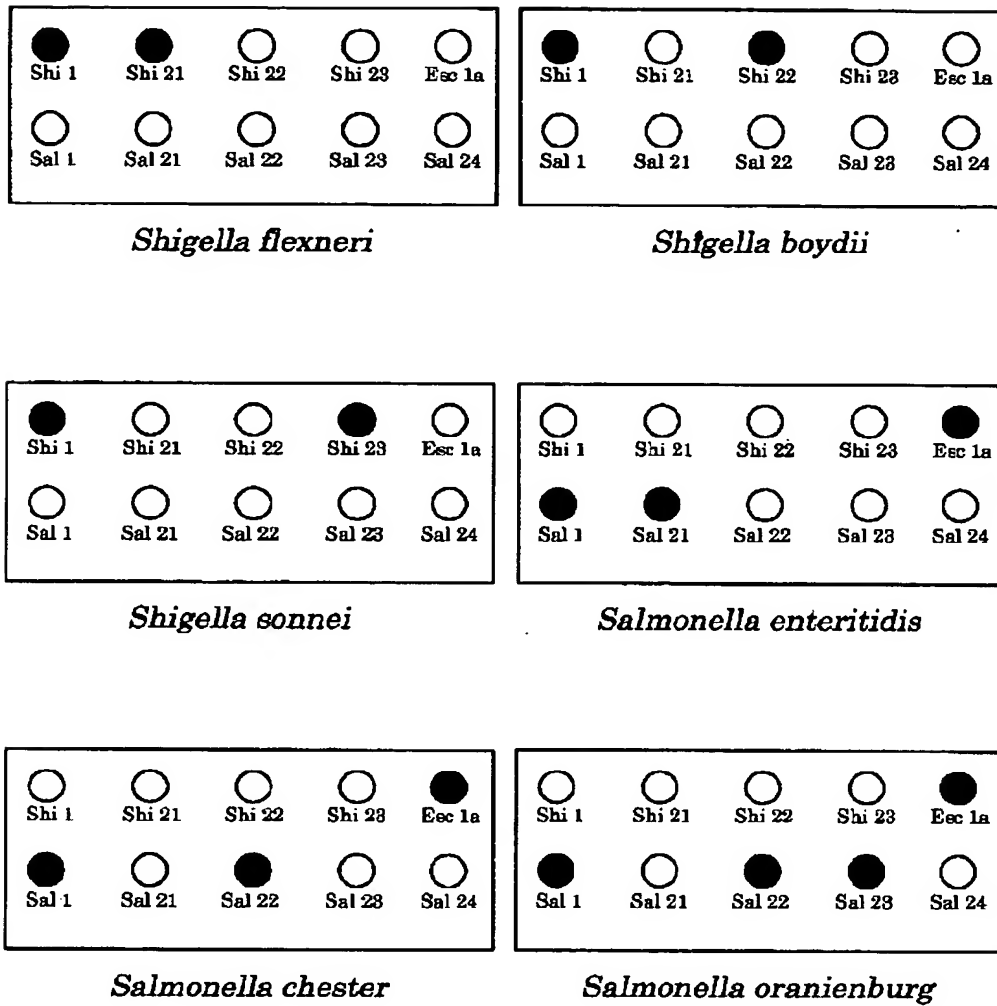
【図11】

<i>S. flexneri</i>	1028	GGTAAATCCTTAACGTCGAGAAAGCGCGCTTCCATAACATGCTCTCTCTCAGGAAGTG	1087
<i>S. sonnei</i>	1028C.....T.....	1087
<i>S. boydii</i>	1028C.....T.....	1087
<i>S. typhi</i>	1028C.....T.....C.....C.....	1087
<i>S. paratyphiA</i>	1028C.....C.....C.....	1087
<i>S. paratyphiB</i>	1028C.....T.....C.....C.....	1087
<i>S. enteritidis</i>	1028C.....C.....C.....	1087
<i>S. chester</i>	1028C.....C.....C.....	1087
<i>S. oranienburg</i>	1028C.....C.....C.....	1087
<i>S. typhimurium</i>	1028C.....T.....C.....C.....	1087
<i>E. coli O157</i>	1028C.....	1087
<i>Y. enterocolitica</i>	1028T.....G.....T.....T.....C.....A.....T.....G.....	1087
<i>Y. ruckeri</i>	1006G.....T.....G.....T.....T.....T.....G.....G.....	1065
<i>E. cloacae</i>	1028C.....T.....C.....T.....C.....	1087
<i>E. aerogenes</i>	1028T.....C.....A.....A.....A.....	1087
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	1253G.....T.....A.....A.....A.....C.....T.....A.....G.....A.....	1317
<i>V. diazotrophicus</i>	1253G.....T.....A.....T.....A.....A.....T.....T.....A.....T.....	1317
<i>V. gazogenes</i>	1245G.....T.....A.....C.....T.....C.....A.....A.....G.....A.....	1305

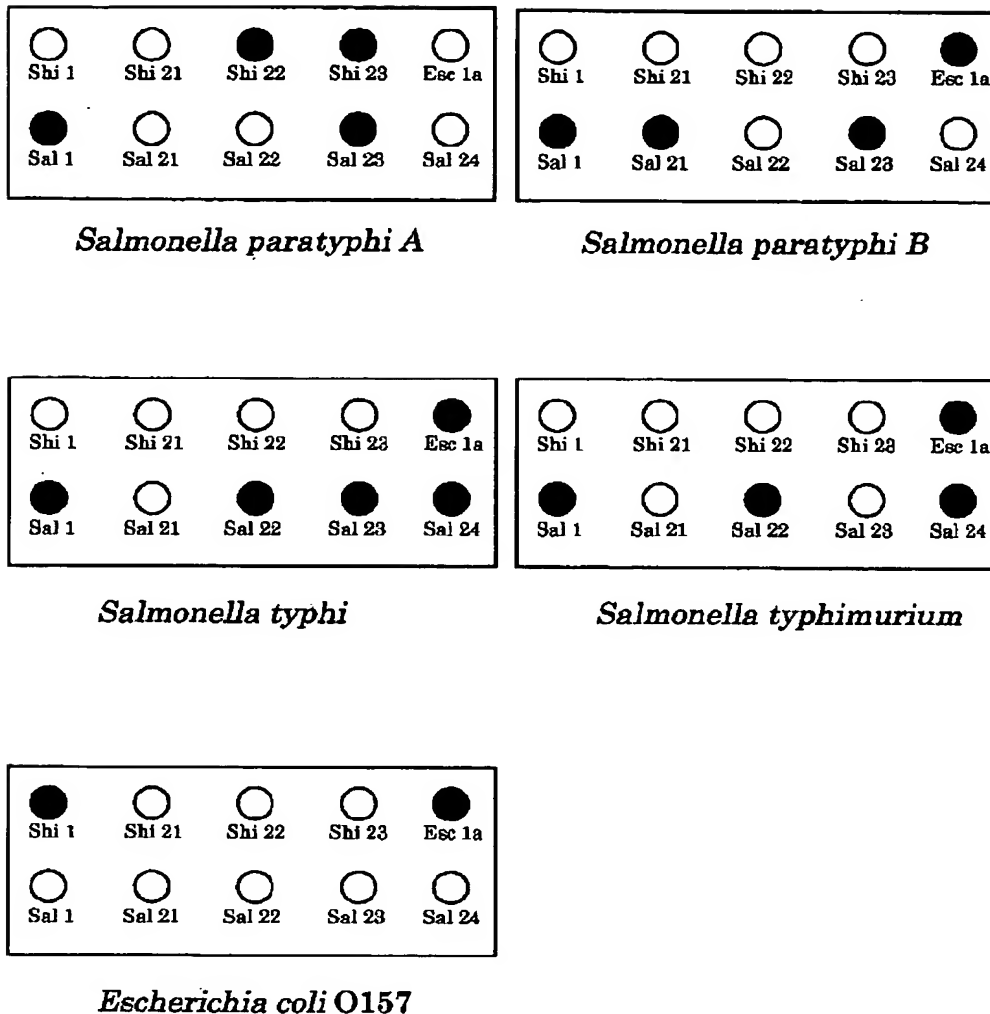
<i>S. flexneri</i>	1088	GCGACGCTTATCACCGCGCTTGCGCTGTGGTATCGGTGACGAGTACACCCGGACAAA	1147
<i>S. sonnei</i>	1088	1147
<i>S. boydii</i>	1088	1147
<i>S. typhi</i>	1088G.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>S. paratyphiA</i>	1088G.....T.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>S. paratyphiB</i>	1088G.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>S. enteritidis</i>	1088G.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>S. chester</i>	1088G.....T.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>S. oranienburg</i>	1088T.....G.....A.....G.....C.....C.....	1147
<i>S. typhimurium</i>	1088G.....G.....C.....C.....G.....	1147
<i>E. coli O157</i>	1088T.....	1147
<i>Y. enterocolitica</i>	1088	..A..A..G.....T..G..T.....T..A..G..T..A..T.....	1147
<i>Y. ruckeri</i>	1066	..C.....G..T..T.....G.....C.....T..C..G..T..A..T.....G.....	1125
<i>E. cloacae</i>	1088A..C..T.....G.....C..C..T..C.....	1147
<i>E. aerogenes</i>	1088	..C.....G.....C..C.....C..C..T.....T.....	1147
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	1318	..A....G..T..T..A..A..T.....	1377
<i>V. diazotrophicus</i>	1318	..A..A..G..T..T..AT..A..T.....C..T..A.....A..T...	1377
<i>V. gazogenes</i>	1306	..A..AT..G..T.....T..A..T..C..C..T..C.....A..T.....	1365

<i>S. flexneri</i>	1148	CTGCGTTATCACAGCATCATCATC	1171
<i>S. sonnei</i>	1148	1171
<i>S. boydii</i>	1148	1171
<i>S. typhi</i>	1148C.....	1171
<i>S. paratyphiA</i>	1148C.....	1171
<i>S. paratyphiB</i>	1148C.....	1171
<i>S. enteritidis</i>	1148C.....	1171
<i>S. chester</i>	1148C.....	1171
<i>S. oranienburg</i>	1148C.....	1171
<i>S. typhimurium</i>	1148C.....	1171
<i>E. coli O157</i>	1148	1171
<i>Y. enterocolitica</i>	1148	T.....AT.....T...	1171
<i>Y. ruckeri</i>	1125	T.....C.....	1137
<i>E. cloacae#P1</i>	1148C..C.....	1171
<i>E. aerogenes</i>	1148	1171
<i>V. alginolyticus</i>	660	-----	660
<i>V. campbellii</i>	1378C.....A.....	1401
<i>V. diazotrophicus</i>	1378C..C.....A.....	1401
<i>V. gazogenes</i>	1366C.....AT.....	1389

【図 12】



【図13】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	テマコード (参考)
G 0 1 N 33/566		(C 1 2 Q 1/68	A
33/569		C 1 2 R 1:42)	
//(C 1 2 Q 1/68		(C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 R 1:42)		C 1 2 R 1:01)	
(C 1 2 Q 1/68		C 1 2 N 15/00	Z N A A
C 1 2 R 1:01)			F

(72) 発明者 福島雅夫
東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア
ールエル八王子ラボラトリー内

(72) 発明者 柿沼健一
東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア
ールエル八王子ラボラトリー内

(72) 発明者 川口 竜二
東京都八王子市小宮町51 株式会社エスア
ールエル八王子ラボラトリー内